

PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

ROBERT CHAMBERS UND WILLIAM SEIFRIZ
NEW YORK PHILADELPHIA

HERAUSGEgeben VON

JOSEF SPEK UND FRIEDL WEBER
ROSTOCK GRAZ

BAND XLI, HEFT 3
MIT 31 TEXTABBILDUNGEN
ABGESCHLOSSEN AM 22. JULI 1952



WIEN
SPRINGER-VERLAG
1952

Protoplasma

Die Zeitschrift

Protoplasma

erscheint zwangslässig in einzeln berechneten Heften wechselnden Umfangs, die zu Bänden von 600 bis 640 Seiten vereinigt werden.

Die Zeitschrift veröffentlicht Originalarbeiten, kurze Mitteilungen, Sammelreferate und kritische Referate aus allen Teilen der Protoplasmaforschung.

Manuskripte sowie alle auf die Redaktion bezüglichen Anfragen sind an

Prof. Dr. Fr. Weber, Pflanzenphysiologisches Institut,
Graz, Schubertstraße 51, Österreich

oder an

Prof. Dr. J. Spek, Zoologisches Institut,
(3a) Rostock, Universitätsplatz, Deutschland, Russ. Zone

zu senden; alle geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag in Wien I, Mölkerbastei 5.

Die Manuskripte sollen mit der Maschine geschrieben sein. Den Abhandlungen ist eine Zusammenfassung beizufügen die Literatur ist nicht in Form von Fußnoten, sondern am Ende der Arbeit in Listenform anzuführen.

Die Manuskripte sind vollständig druckreif und in fehlerfreier Sprache einzusenden, so daß bei der Korrektur nur Satzfehler verbessert zu werden brauchen. Überschreiten die Autorkorrekturen 10% der Satzkosten, hat der Autor das Mehr zu tragen.

Die Vorlagen für die Abbildungen müssen vollkommen nachbildungsfertig abgeliefert werden Kosten für etwa nötige Umzeichnungen werden dem Verfasser in Rechnung gestellt. Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige Maß zu beschränken. Für die Reproduktion besondere reichen Illustrationsmaterials ist ein Uukostenbeitrag zu leisten.

Bedingung der Aufnahme von Arbeiten ist: möglichst kurze Fassung des Textes. Die Beiträge sollen den Umfang von 1½ Druckbogen (24 Seiten) nicht überschreiten.

Die Aufnahme von Artikeln, welche bereits an anderer Stelle in wörtlich oder auch nur inhaltlich gleicher Fassung publiziert worden sind, wird abgelehnt. „Vorläufige Mitteilungen“ und Auseinandersetzungen polemischen Inhalts werden nicht angenommen. Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Jänner desjenigen Jahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Der Verfasser verpflichtet sich also, innerhalb dieser Frist seines im Protoplasma abgedruckten Beitrag nicht anderweitig zu veröffentlichen.

Die Abhandlungen, kurzen Mitteilungen, Sammelreferate und Referate können in den Sprachen der internationalen biologischen Kongresse verfaßt sein.

Die Verfasser erhalten 100 Sonderdrucke ihrer Beiträge kostenlos und können weiters (bis zu 200) gegen angemessene Berechnung beziehen. Unkostenersatz wird nur für Sammelreferate geleistet.

Springer-Verlag, Wien I, Mölkerbastei 5

Fernsprecher: U 26-5-60 Serie — Telegrammadresse: Springerbuch Wien

XLI. Band

Inhaltsverzeichnis

3. Heft

Abhandlungen

Seite

Small, James: The New Outlook on pH	273
Weber, Friedl, Griseldis Kenda und Irmtraud Thaler: Viruskörper in Kakteen-Zellen	277
Url, Walter: Permeabilitätsstudien mit Fettsäureamiden	287
Brauner, L., und M. Hasman: Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Heterauxins bei der Wasseraufnahme von Pflanzenparenchymen.....	302
Milićević, Davor: Zur Kenntnis der Phlobaphenkörper in Früchten einiger <i>Malus</i> -Arten	327

Sammelreferat

De Rezende-Pinto, M. C.: Über die Genese und die Struktur der Chloroplasten bei den höheren Pflanzen. Ergebnisse und Probleme.....	336
--	-----

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite





The New Outlook on p_H

By

James Small, Belfast

(Received February 19, 1952)

Many readers of "Protoplasma", especially those who are not chemists, may be surprised to learn that p_H is no longer to be regarded as a measure of hydrogen-ion concentration. The hydrogen-ion activity view of acidity which was put forward in 1926 by Lewis is now modified, to the extent that this activity, if it is to be measured, must be estimated as activity in relation to something else which is generally, if not always, associated ions.

The present writer is working on a new presentation of some p_H phenomena, as an addition to those in his book " p_H and Plants", now out of print, and in order to bring the history of the p_H scale up-to-date has prepared an introduction about this new outlook on p_H . But books are apt to be very long in appearing, and he thinks that meanwhile a warning or at least some information about official opinions on this subject should be available as early and as widely as possible. The following brief account should be read with the phrase "universally reproducible" emphasised. It is not proposed that a reliable accuracy to the second decimal place cannot be obtained when a particular worker uses a particular p_H meter carefully over one titration curve, but it is proposed that, for general use in legal definitions, in industrial processes, and for comparisons of results obtained by different workers with different instruments, even if these be of the same make, p_H cannot be measured with an accuracy greater than $x \pm 0.02$. This means that arguments about the value of the second decimal are no longer useful.

The new p_H has been defined and specified as a practical operational series of values for differences between the unknown solutions and one or more solutions of "standard" p_H values. These "standard" p_H values are now to some extent an arbitrarily fixed basis for p_H measurements, so that p_H has no longer its simple and direct connection with hydrogen-ion concentration. The modifying factors include the old one of temperature and the now officially recognised "activity coefficient".

To quote British Standard 1647 : 1950—"Originally, p_H was intended to denote $-\log_{10} C_H$, where C_H is the hydrogen-ion concentration. It is now realised that, if thus defined, p_H is not measurable. In fact if p_H is to be

a measurable quantity, it cannot have any exact simple fundamental significance".¹

The scope of the British Standard 1647:1950 is limited in Clause 1 to "aqueous solutions at temperatures between 0° C. and 60° C. The standard is intended to be accurate within ± 0.005 ", but it is recognised that this degree of accuracy is "rarely obtainable with the glass electrode" (Clause 4), and in Clause 5 it is stated that "the definition adopted is a practical one", and that "in the restricted range of dilute aqueous solutions (not exceeding one-tenth molar) ... (p_H between 2 and 12), the definition is such that

$$p_H = -\log_{10} C_H f_1 \pm 0.02 \quad (1)$$

where C_H denotes the concentration of hydrogen-ion in g. ions/litre, and f_1 denotes the mean activity coefficient of a typical uni-univalent electrolyte in the solution".¹

Thus, while an accuracy of ± 0.005 is possibly attainable under special conditions, an accuracy of ± 0.02 is recognised in the interpretation Clause 5. In the use and calibration Clause 4, a warning is given that "there are at present only about half a dozen suitable solutions the p_H values of which, determined according to this British Standard, are reliably known to an accuracy of ± 0.005 ".¹

The American standards are similar, as given in the Letter Circular LC 993 of the U.S. National Bureau of Standards dealing with the "Standardization of p_H Measurements made with the Glass Electrode". Quoting this LC 993—"The National Bureau of Standards proposes that the scale of p_H be defined in terms of certain p_H standards whose assigned p_H values correspond as closely as possible to the negative of the common logarithm of the activity of hydrogen (Hydronium) ion, $-\log a_H$, in the respective solutions".²

This LC 993 is very informative in clear straight-forward non-theoretical phraseology, so that it seems best to quote again—"1. Definition of p_H . In the early days of p_H measurements the usual object of measuring acidity was the estimation of the hydrogen-ion concentration of a buffer solution or a solution of an acid or base. However, development of the glass-electrode p_H meter brought hydrogen-ion measurements out of the laboratory and put them to work in all phases of commerce and industry. The p_H is now customarily regarded as a property of many diverse materials that possess some acidic or basic character. These may even include solids and solutions in non-aqueous or partially aqueous solvents. The technologic importance of p_H is based to a large degree on this point of view. With this change of emphasis the p_H unit has necessarily lost some of its fundamental meaning."

¹ Quotations by permission of the British Standards Institution, 24/28 Victoria Street, Westminster, London S.W. 1.

² Quotations with all due acknowledgments to the Department of Commerce, National Bureau of Standards, Washington 25, D.C., U.S.A.

The italics are mine, to emphasise that, while the B.S. 1647 is limited to aqueous solutions, p_H numbers may refer to solids or non-aqueous solvents. The LC 993, however, contains a warning that "Measurements in mixed solvents or non-aqueous media must be treated as numbers only, as the interpretation of p_H in solvents other than pure water is difficult if not impossible at the present time". This warning would naturally apply to solids, with their possible base avidities and adsorbed ions, but these matters are discussed elsewhere.

The B.S. 1647 : 1950 defines its primary standard thus—"This primary standard shall be a one-twentieth molar solution of pure potassium hydrogen phthalate" (HOOC.C6H4.COOK). "The p_H of this solution shall be defined as having the value 4 exactly at 15° C. At any other temperature t ° C. between 0° C. and 60° C., its p_H shall be defined by the formula:—

$$p_H = 4.000 + \frac{1}{2} \left(\frac{t - 15}{100} \right)^2. \quad (2)$$

The U.S.A. LC 993 also defines p_H in activity terms, because "the well established electrometric method of p_H measurements furnishes a number related more closely to a_H than to c_H . For these reasons p_{H_s} is defined in terms of activity:—

$$p_{H_s} = -\log a_H = -\log (f_H m_H) \quad (3)$$

where m is molality and f is the activity coefficient on the molal scale." As a comment on the above equation and possibly indirectly upon the use of the mean activity coefficient in the B.S. 1647 formula given above, the LC 993 adds a paragraph as follows—"The activity and activity coefficient of a simple ionic species such as hydrogen have no precise thermodynamic meaning. This objection to the form of equation 3 could be removed by substituting the mean activity coefficient, f_{\pm} , of a typical uni-univalent electrolyte for f_H . However, there is nothing to be gained by such a sacrifice of simplicity, for the estimated values of f_H may be identical with f_{\pm} at all concentrations."

The equation 3 does not include a limit of accuracy such as ± 0.02 , but LC 993 discusses the limits of accuracy under various conditions. Instead of having one primary standard, eight standard solutions are used to spread over a p_H range of 2.14 to 11.72, and in Table 3 the characteristics of these eight standards in relation to temperature and dilution are given to the second decimal place, so that an accuracy, in the measurement of these relatively strong buffer solutions, of about ± 0.005 seems to be accepted. In Appendix C of B.S. 1647 the p_H values of the primary standard are given for temperatures of 0° C. to 60° C. and third decimals are used with a footnote to the effect that "The third decimal figure is not significant, but is included merely to facilitate smooth interpolation."

This latter Table shows that the p_H values for the primary standard is 4.00 over the usual range of laboratory temperatures, 10° C. to 20° C., being

J. Small: The New Outlook on p_{H}

given as 4.001 at 10° and 20° C. and 4.000 at 15° C., with 4.005 at 25° C. In LC 993 the same solution, 0.05 M phthalate, is given as p_{H} 4.01 at 0°, and also 4.01 for both 25° and 30° C., and as p_{H} 4.00 at 10° and 20° C., so that the third decimal figure cannot be regarded as significant when two standardising authorities vary by $\pm .005$ at 25° C. Their agreement on the second decimal is to be expected with standard solutions of 0.05 M concentration and the same pure chemical: but this degree of reproducibility is clearly not to be expected with the weaker buffer solutions or mixtures of substances which are the usual material for p_{H} measurements in botanical and zoological research, and often in the control of industrial processes and commercial products. Therefore, the ± 0.02 of the British Standard 1647 : 1950 seems to be very practical.

In mixtures of substances, even in purely aqueous solution, the accuracy of even the second decimal figure, with its accepted variation over 0.04 of a p_{H} unit, is at least suspect; and this brings a greater respect for the lesser degree of accuracy which can be attained (as ± 0.1) with the simple method of careful tint comparisons with p_{H} indicator papers, especially for weakly buffered aqueous media where the incidental variations may cover one or more p_{H} units.

All this brings the recent official outlook on the accuracy of p_{H} values nearer to that which was adopted in " p_{H} and Plants" (Small, 1946) where only the first decimal figure was used throughout, except in some quoted values given by other authors.

Viruskörper in Kakteen-Zellen

Von

Friedl Weber, Griseldis Kenda und Irmtraud Thaler

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz)

Mit 7 Textabbildungen

(Eingelangt am 24. März 1952)

Weber und Kenda (1952) haben auf die Mannigfaltigkeit der Gestalt der Eiweißeinschlüsse von *Rhipsalis cereuscula* aufmerksam gemacht; da diese Körper in Beziehung zu einer Virusinfektion stehen, verdienen sie besondere Beachtung. Die bisher in der Epidermis und in subepidermalen Zellen aufgefundenen Körper, vornehmlich Spindeln und Ringe, befanden sich in den Sproßgliedern dieser Pflanze. *Rhipsalis* kam im Winter zur Blüte, und so bot sich die Gelegenheit, die Blütenteile auf das Vorkommen der kurz als „Viruskörper“ bezeichneten Cytoplasmaeinschlüsse hin zu untersuchen. Bei *Epiphyllum truncatum*-Pflanzen, die Eiweißspindeln in den Zellen der Sprosse enthalten, finden sich in den Zellen der Blütenblätter in der Regel derartige Gebilde nicht. Bei *Rhipsalis cereuscula* dagegen waren auch die Blütenblätter nicht frei von Viruskörpern; Fruchtknoten, Filament und Griffel enthielten jedoch keine.

Die Blütenblätter von *Rhipsalis* eignen sich infolge ihrer Zartheit besonders gut zur vitalen Beobachtung der Viruskörper, da die Anfertigung von Schnitten nicht nötig ist. Die Viruskörper kommen in den Blütenblättern in der oberen und unteren Epidermis vor sowie auch im Mesophyll, besonders im oberen Drittel. In den Blütenblättern zeigen die Viruskörper sehr selten die für sie in den Sproßzellen typische Gestalt der kompakten, homogen erscheinenden, schlanken Spindel, Ringe oder Achter. In der Blütenregion waren die Spindeln vielmehr fast durchwegs bauchig und sehr locker gebaut, das heißt sie ließen ihre Zusammensetzung aus einigen wenigen Teilen deutlich erkennen (Abb. 1 a). Viel häufiger waren zarte, ja äußerst zarte, in Windungen und Verschlingungen gelegte Fäden; sie waren in den Zellen oft in so großer Zahl vorhanden, daß sie das Zytoplasma fast ganz erfüllten; Abb. 1 b—d gibt die Verhältnisse nur vereinfacht wieder und daher keine ganz richtige Vorstellung von dem komplizierten Gewirr dieser Fäden. Diese sind flexibel, schwerer als das Cytoplasma und lassen sich durch Zentrifugieren leicht zusammenballen. Manchmal sind die Viruskörper schon ohne Zentrifugierung an den Enden der länglichen Zellen zu einem unentwirrbaren Haufwerk zusammengedrängt. Es läßt sich dann nicht

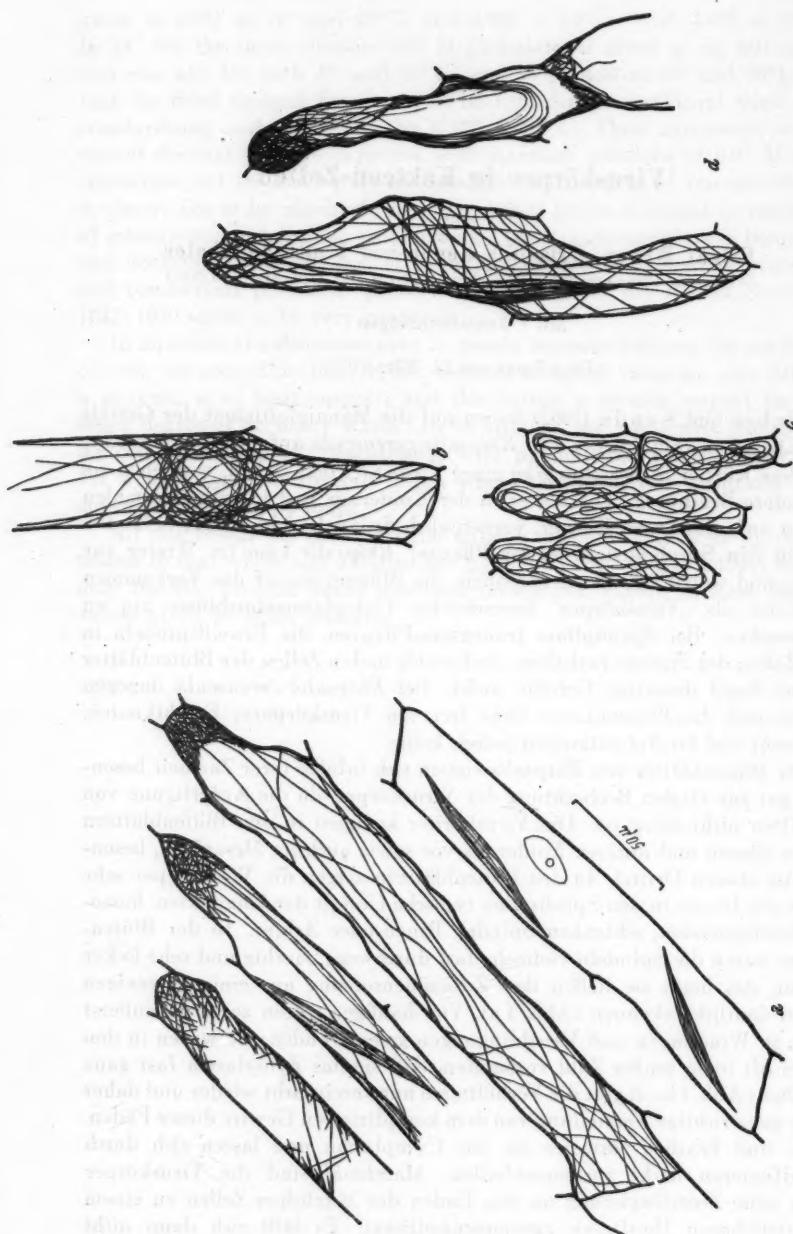


Abb. 1. *Rhipsalis cereuscula*. Blütenblattzellen. Viruskörper fädig oder spindelförmig.

immer mit Sicherheit entscheiden, ob ein Gewirr von kurzen Kristallnadeln oder Fäddchen vorliegt oder ein verschlungenes Nest aus längeren Fäden (Abb. 1 b—d). In anderen Zellen wieder ist es ganz deutlich zu sehen, daß das dichte, mehr oder weniger umfangreiche Aggregat aus kleinen, stäbchenförmigen oder nadelförmigen Kriställchen sich zusammensetzt, die keine bestimmte Orientierung zeigen. Diese Kristallhaufwerke, die im Cytoplasma liegen, können ihre Umrisse ändern und allmählich auch ihre Lage in der Zelle. Von besonderem Interesse ist es, daß sich die nadelförmigen Kriställchen dabei bisweilen mit der Zeit parallel zueinander zu Strängen ordnen und immer näher aneinanderrücken. Die Doppelbrechung dieser Stränge wird in diesem Falle immer stärker. Ob am Zustandekommen der Parallelorientierung der Einzelkristalle die Cytoplasmaströmung eine Rolle spielt, die Kriställchen also im Strom ausgerichtet werden, läßt sich nicht sagen. Möglicherweise spielen Kräfte eine Rolle, wie sie in Virus-Eiweißlösungen lange Partikel zu spindelförmigen Taktoiden ordnen (Bernal und Fankuchen 1941). Auf solche Weise erklären manche Forscher ja auch die Bildung der Mitose-Spindel (vgl. Schrader 1949: 67). Es liegt nahe, sich die locker gebauten, bauchigen Eiweißspindeln auf folgende Weise zustande gekommen zu denken: kurze, nadelförmige Kriställchen fügen sich durcheinanderlegen an den Enden zu längeren Fasern zusammen, und diese orientieren sich wie in einem Taktoid zu einer Spindel. Sehr selten ist es, daß sich die kleinen Kriställchen strahlenförmig um ein Zentrum anordnen, so daß eine Kristalldruze resultiert (Abb. 2). Ganz selten sahen wir scheibenförmige Gebilde mit

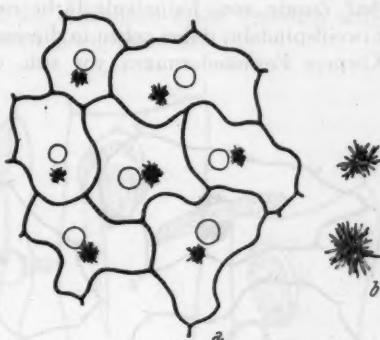


Abb. 2. Kristalldrusenartig angeordnete Eiweißkristalle. a von *Epiphyllum truncatum*. b von *Rhipsalis cereuscula*.

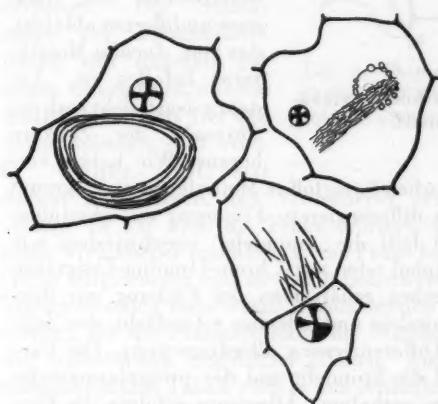


Abb. 3. *Rhipsalis cereuscula*. Blütenblatt, Epidermiszellen. Eiweiß-Sphärokristalloide und andere Viruskörper.

Taktoid zu einer Spindel. Sehr selten ist es, daß sich die kleinen Kriställchen strahlenförmig um ein Zentrum anordnen, so daß eine Kristalldruze resultiert (Abb. 2). Ganz selten sahen wir scheibenförmige Gebilde mit

leicht angedeuteter Schichtung: das Bild, das sie darbieten, kann verglichen werden mit dem eines *Triticum*-Stärkekornes, nur sind die Gebilde größer. Im Polarisationsmikroskop erscheint in ihnen ein Sphäritenkreuz (Abb. 3). Auf Zusatz von Jodjodkali färbt sich die „Scheibe“ gelbbraun wie die Eiweißspindeln; dabei gehen in diesem Reagens unter leichter Quellung des Körpers Formänderungen vor sich, ohne daß die Doppelbrechung verlorenginge. (Über das polarisatorische Verhalten kugeliger Eiweißgebilde bei *Impatiens Balsamina* hat Küster 1948 berichtet.)

Neben den Zellen mit den eben kurz skizzierten, doppelbrechenden Viruskörpern findet man in den *Rhipsalis*-Blüten auch noch Zellen mit kugelförmigen protoplasmatischen x-bodies. Diese sehen genau so aus wie die Einschluskkörper, die Bawden (1950) von Epidermiszellen von *Solanum nudiflorum* abbildet, das vom *Aucuba*-Mosaikvirus befallen ist. Aus dem x-body sieht auch bei *Rhipsalis* der Zellkern heraus. Wir haben ver-

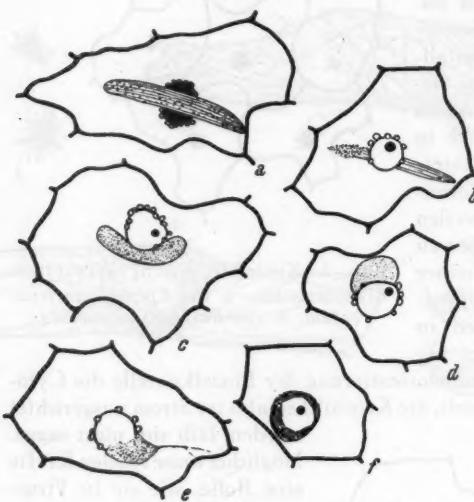


Abb. 4. *Opuntia subulata*. Virus-x-Körper granuliert. Eiweißspindeln gestreift.

sucht, durch Färbung mit den basischen Farbstoffen Methylgrün und Pyronin Einschluskkörper und Zellkern zu differenzieren. Fixierung mit absolutem alkoholhaltigem Fixierungsmittel läßt die „Spindeln“ verschwinden, wir fixierten daher mit Sublimat-Alkohol oder mit Chrom-Osmium-Essigsäure nach Flemming. Nach Auswaschen erhält man bei Färbung mit dem Farbstoffgemisch (nach Unna) Spindeln und x-bodies rot gefärbt, den Zellkern grün. Immer gelingt diese Differenzierung allerdings nicht. Die Färbung würde dafür sprechen, daß die Spindeln und der protoplasmatische Einschluskkörper Ribonukleinsäure enthalten. Allerdings erfolgte die Färbung auch nach vorhergehender Salzsäurehydrolyse bzw. Vorbehandlung mit Trichloressigsäure.

Die Größe der Eiweißspindeln (Viruskörper) steht in Relation zur Größe der Zelle, in der sich diese Gebilde befinden. Es erscheint zunächst selbstverständlich, daß in einer großen Zelle eine längere Spindel Platz hat als in einer kleinen Zelle (Abb. 7). So einfach ist diese Größenrelation aber doch wohl nicht zu verstehen. Die Spindel der größeren Zelle ist nicht nur

besonders lang, sondern auch breiter als die in der kleinen Zelle. Es bedarf also wohl erst einer Erklärung, wieso eine größere Zelle befähigt ist, mehr Spindelsubstanz zu bilden als eine kleine. Es wäre von Interesse zu wissen, ob die großen subepidermalen Zellen, die auffallend große Spindeln aufweisen, etwa durch Endomitose polyploid geworden sind.

Wenn dies der Fall wäre, so könnte man vermuten, daß die Bildung des Spindeleiweiß im Cytoplasma direkt oder indirekt vom Zellkern abhängig ist.

Der Inhalt der Schließzellen der Sproßglieder von *Rhipsalis* ist schwer zu untersuchen, da die Zellmembranen dieser Zellen sehr dickwandig sind und die Stomazellen auch nicht selten kollabieren. Es läßt sich daher nicht leicht entscheiden, ob die Schließzellen Viruskörper enthalten. Die Stomazellen der Blütenblätter lassen sich dagegen gut sehen. Es zeigt sich, daß die Schließzellen stets frei von Eiweißspindeln sind (Abb. 6).

Weber (1951) hat darauf hingewiesen, daß Viruskörper den Schließzellen im allgemeinen fehlen. Er hat auch die Frage erörtert, warum gerade die Schließzellen keine Viruskörper enthalten. Diese Frage hat im übrigen bereits Sheffield (1936) aufgeworfen und sie dahin beantwortet, daß die Stomazellen mit den Epidermiszellen nicht durch Plasmodesmen verbunden sind und die Viruserreger, die die Plasmabrücken als Wanderwege benützen, daher nicht in die Schließzellen eindringen können. Andererseits hat Esau (1941) bei mosaikkrankem Tabak auch in den Schließzellen Einschlußkörper gefunden. Es wäre vom Interesse, ob in der Blütenblatt-Epidermis von *Rhipsalis* zwischen Epidermis- und Stomazellen Plasmodesmen fehlen. Nach Kohl (1897) sind die Schließzellen der Stomata entgegen der Ansicht anderer Autoren ebenso mit ihren Nachbarzellen und untereinander durch Plasmabrücken verbunden wie alle übrigen Zellen eines pflanzlichen Organismus.

Die Zahl der Kakteen, in deren Zellen „Eiweißspindeln“ gefunden wurden, ist nicht groß (Weber und Kenda 1952). Es mag daher auf das Vorkommen dieser Gebilde in einer *Opuntia* hingewiesen werden, für die solche

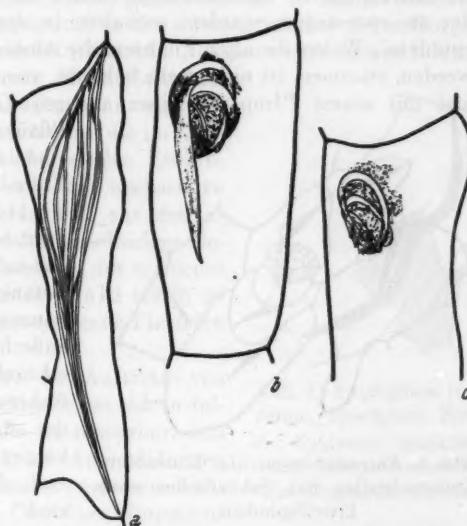


Abb. 5. *Rhipsalis cereuscula*. Blütenblatt. Mesophyllzellen. a locker gebaute Spindel, b und c granulierte x-Körper in Verbindung mit gewundenem Viruskörper.

Einschluskkörper anscheinend noch nicht bekannt sind. Es ist dies *Opuntia subulata*. Die Pflanzen, die in den Gewächshäusern des Botanischen Gartens der Universität Graz in Kultur stehen, wurden uns von Herrn Professor Widder zur Untersuchung zur Verfügung gestellt. Es sind einige junge, ca. 10 cm hohe Stecklingspflanzen sowie zwei größere alte Pflanzen (60 cm). Sowohl die Blätter der Stecklingspflanzen als auch die der alten Pflanzen, der sie entnommen wurden, enthalten in den Epidermiszellen „Eiweißspindeln“. Woher die alten Pflanzen, die schon seit vielen Jahren kultiviert werden, stammen, ist nicht mehr bekannt, vor allem auch nicht, ob sie einmal mit einem Ppropfreis einer anderen Eiweißspindeln enthaltenden

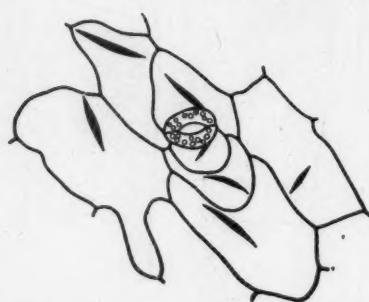


Abb. 6. *Rhipsalis cereuscula*. Blütenblatt. Epidermiszellen mit, Schließzellen ohne Eiweißspindeln.

Pflanze in Verbindung gestanden sind. *Opuntia subulata* wird aus Chile bezogen, sie ist aber nach Britton und Rose (1919) dort nicht wild anzutreffen. Die *Opuntia subulata*-Pflanzen des Grazer Botanischen Gartens sehen vollkommen gesund aus, irgendwelche äußerliche Symptome einer Virus-erkrankung sind an ihnen nicht wahrzunehmen. Trotzdem sind wir der Ansicht, daß die Einschluskkörper in den Epidermiszellen auch dieser *Opuntia* Viruskörper sind.¹ Dafür spricht vor allem das häufige Vorkommen von x-bodies

in den Zellen. Die x-bodies dieser Kaktee haben ein etwas anderes Aussehen als diejenigen, die in den Zellen der Sprosse von *Rhipsalis cereuscula* zu finden sind. Die körnigen Einschlüsse in den x-bodies von *Rhipsalis* sind von verschiedener, bisweilen recht beträchtlicher Größe, die x-Körper von *Opuntia* sind von kleinsten Granula oder Stäbchen gleicher Größe erfüllt. Sie ähneln weitgehend den Einschluskkörpern, die Iwanowski schon 1903 in den Palisadenzellen mosaikkranker Tabak-blätter gefunden und als Zooglöen aufgefaßt hat: „Die Zooglöen bestehen aus sehr kleinen Formelementen, die aber nicht Kokken, sondern sehr kurze Stäbchen sind.“ In der ausführlichen Liste, die Cook (1947) von Pflanzen bringt, in denen bisher x-bodies nachgewiesen wurden, scheinen Kakteen nicht auf. Hervorzuheben ist, daß in den Epidermiszellen von *Opuntia subulata* der Kontakt der „Eiweißspindeln“ mit den x-bodies und dieser wieder mit den Zellkernen ganz besonders innig ist. Die Eiweißspindeln, die bei *Opuntia subulata* einen stark ausgeprägten feinfaserigen Aufbau erkennen lassen, sind meist zum Teil von dem feingranulierten x-body eingehüllt, manchmal überzieht diese das Eiweißkristalloid zur Gänze mit einer

¹ *Opuntia subulata* wäre demnach als äußerlich „symptomloser“ Virusträger zu bezeichnen.

dünnen Schicht. Der Zellkern sieht in der Regel aus dem x-body heraus, in einigen Fällen haben wir ihn ganz von diesem eingehüllt gesehen. Im x-body werden bisweilen, abgesehen von der kugeligen Granulation, Kriställchen sichtbar; trotz ihrer Kleinheit läßt sich an ihnen schon Doppelbrechung feststellen. Diese Kriställchen scheinen sich im allgemeinen so anzutreffen, daß sie dann als „Spindel“ aus dem x-body herauswachsen. Es kommt aber auch vor, daß die Nadelchen ungeordnet in der dünnen Schicht des x-Körpers bleiben, die den Zellkern umhüllt (Abb. 4 f). Aus den verschiedenen Bildern, die sich darbieten und deren Mannigfaltigkeit nur angedeutet werden konnte,² gewinnt man folgenden Eindruck: In den x-Körpern, die im Kontakt mit dem Zellkern stehen, werden Eiweißnadeln oder -fäden gebildet; diese wachsen zu größeren Viruskörpern heran und aus den x-bodies heraus und können dabei verschiedene Gestalten annehmen. Die Entstehung der x-Körper soll hier nicht erörtert werden. Bald (1948) ist der Ansicht, daß daran degenerierende Plastiden beteiligt sind.

1928 hat Klehbahn über das Auftreten von Eiweißspindeln in pflanzlichen Zellen sich in folgender Weise geäußert: „Es ist sonderbar, daß diese Gebilde beim Tabak als Ausscheidungen infolge des Krankheitszustandes entstehen, während sie bei *Epiphyllum*, *Oncidium*, *Impatiens* usw. Erzeugnisse des normalen Lebens sind“. Damals war über das Vorkommen von symptomlosen Virusträgern noch kaum etwas bekannt. Heute aber, wo über gesunde Virusträger schon eine relativ reiche Literatur vorliegt (vgl. Bawden 1950), ist es nach den Ergebnissen der Untersuchungen von Mikosch (1908), Rosenzopf (1951), Weber (1951), Weber und Kenda (1952) doch recht wahrscheinlich geworden, daß die Eiweißspindeln der Kakteen, auch wenn die Pflanzen gesund aussehen, mit Virusbefall im Zusammenhang stehen. Wenn das zutrifft, erhebt sich die weitere Frage: wie steht es in dieser Hinsicht mit den Eiweißspindeln und Kristalloiden im Cytoplasma oder Zellkern anderer Pflanzen. In den Zellkernen viruskranker Pflanzen wurden bis vor kurzem Einschlüsse nicht gefunden, 1939 hat aber Kasanis in Zellkernen von *Nicotiana Tabacum*, „infected with severe etch virus“, Eiweißkristalloide nachgewiesen. Man wird trotzdem kaum so weit gehen wollen, zu vermuten, daß die Eiweißkristalloide in allen Pflanzen als Viruskörper aufzufassen seien, doch sei in diesem Zusammen-

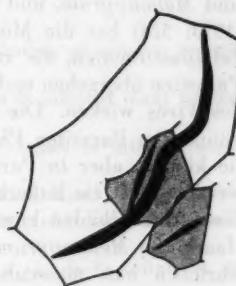


Abb. 7. *Epiphyllum truncatum*. Sprostoglied. Zellen der Epidermis (punktiert) und Subepidermiszelle. Eiweißspindeln schwarz.

² Auch bei *Opuntia subulata* findet man gelegentlich, wenn auch selten, scheibenförmige Gebilde, die die gleiche Lichtbrechung aufweisen wie die Eiweißspindeln und sich auch sonst wie diese verhalten. Im Polarisationsmikroskop zeigen sie das schwarze Sphärenkreuz. Sie sind entweder die einzigen Einschlüsse der betreffenden Zellen oder es sind in der gleichen Zelle neben den Scheiben auch noch längsgestreifte Viruskörper vorhanden.

hang erwähnt, daß „Bawden and Sheffield found inclusions in otherwise symptomless potato plants infected with virus“ (Bawden 1950: 52). Es wird jedenfalls von Interesse sein, jede Spezies, von der bisher Eiweißkristalloide im Cytoplasma oder Zellkern bekannt sind (Lit. bei Brat, Kenda, Weber 1951, Kenda, Thaler, Weber 1951, Weber 1951), daraufhin zu prüfen, ob sie nicht doch als gesunder Virusträger in Betracht kommt.³

Zu denken wäre da zuerst an parasitische Blütenpflanzen, wie *Lathraea* und *Melampyrum*, und zwar auf Grund folgender Überlegung. Bawden (1950: 324) hat die Möglichkeit erörtert, daß an Nukleoproteiden reiche Zellkonstituenten, die zum normalen Bestand des Wirtes gehören, in den Parasiten übergehen und erst in den Zellen des Parasiten als sich vermehrendes Virus wirken. Die in der fremden Zelle zu Viren gewordenen Teile können im Parasiten Phänomene hervorrufen, die sich als Virosen äußern, sie können aber in Parasiten auch Effekte auslösen, die leicht übersehen werden, weil sie äußerlich nicht in Erscheinung treten. Die Bildung von Eiweißkristalloiden könnte ein solcher Effekt sein. In den Zellkernen der Haare von *Melampyrum nemorosum* kommen, wie Gicklhorn (1932) beschrieben hat, massenhaft Eiweißkristalloide vor. Es ließe sich daran denken, daß die Bildung dieser Kerneinschlüsse durch Substanzen angeregt wird, die aus der Wirtswurzel in den Parasiten übergehen und in diesem zum Virus werden. Es wäre von Interesse, ob die Kernkristalloide in *Melampyrum nemorosum* immer auftreten, gleichgültig auf welchem Wirt der Wurzelparasit schmarotzt. Näher zu untersuchen wäre auch das wenig bekannte Vorkommen von Eiweißkristalloiden in der Epidermis von *Polypodium ireoides* (Kraus 1872). Kraus, der diese Gebilde als „allerliebst Dinger“ bezeichnet, bemerkt, daß sie „leider nicht konstant in allen Exemplaren vorkommen“. Das könnte ein Hinweis sein, daß die Pflanzen, in denen die Kristalloide vorkommen, virus„krank“ sind.

Die vorliegende Arbeit gibt zusammen mit früheren Veröffentlichungen (Weber 1951, Weber und Kenda 1952 und die dort zitierte Literatur) eine wenn auch nur schwache Vorstellung von der Mannigfaltigkeit der Formen, in denen die Viruskörper der Kakteen auftreten können. Eine weitere Aufgabe wird es sein, die cytochemische Analyse dieser Gebilde zu versuchen. Eine solche Analyse ist an den Bestandteilen des Zellkerns und speziell der Chromosomen heute schon weitgehend gelungen (Lit. bei Brachet 1952, Mikroskopische und chemische Analyse der Zelle 1952, Milovidov 1952), sie dürfte an den viel größeren „Eiweißspindeln“ auch möglich sein.

Zusammenfassung

Nicht nur die Sproßglieder, sondern auch die Blütenblätter von *Rhipsalis cereuscula* enthalten Viruskörper. In den Zellen der Blütenblätter bestehen

³ Findlay (1938) äußert sich über Zellkern-Einschlüsse, die mit Virusinfektion in Zusammenhang gebracht werden, dahin, daß manche dieser Viren „give rise to few or no symptoms so they must be regarded as almost saprophytic in character“.

diese vielfach aus einem dichten Haufwerk feinsten Eiweißkristalle, die entweder unorientiert bleiben oder sich zu Taktoiden-Spindeln gruppieren.

Die Laubblätter von *Opuntia subulata* enthalten Eiweißspindeln. Daß auch diese als Viruskörper aufzufassen sind, dafür spricht das Auftreten von x-bodies in den Epidermiszellen. Die x-Körper von *Opuntia subulata* stehen in innigem Kontakt mit dem Zellkern. In den x-Körpern entstehen feinste Eiweißkristalle (Viruskristalle), die sich zu größeren streifig gebauten spindeligen oder anders geformten Gebilden vereinigen.

Literatur

- Bald, 1948: The development of amoeboid inclusion bodies of tobacco mosaic virus. Australian J. Sc. Res. Ser. B. 1.
- 1949 a: A method for the selective staining of viruses in infected plant tissues. Phytopathology 39.
- 1949 b: Additional methods for fixing and staining viruses in infected plant tissues. Americ. J. Botany 36.
- Bawden, 1950: Plant Viruses and Virus Diseases. Waltham, Mass.
- Bernal and Fankuchen, 1941: X-rays and crystallographic studies of plant virus preparations. J. Gen. Physiology 25.
- Brachet, 1952: Le rôle des acides nucléiques dans la vie de la cellule et de l'embryon. Actualités biochimiques 16. Paris.
- Brat, Kenda und Weber, 1951: Rhabdoide fehlen den Schließzellen von *Drosera*. Protoplasma 41.
- Britton and Rose, 1919: The Cactaceae. Descriptions and Illustrations.
- Cook, 1947: Viruses and Virus Diseases of Plants. Minneapolis.
- Esau, 1941: Inclusions in guard cells of tobacco affected with mosaic. Hilgardia 40.
- Findlay, 1938: Inclusion bodies and their relationship to viruses, in Doerr und Hallauer: Handbuch der Virusforschung I. Wien.
- Gicklhorn, 1913: Über das Vorkommen spindelförmiger Eiweißkörper bei *Opuntia*. Österr. bot. Z. 63.
- 1932: Notiz über die Eiweißkristalle im Zellkern der Haare von *Melampyrum nemorosum*. Protoplasma 15.
- Iwanowski, 1903: Über die Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. Z. f. Pflanzenkrankheiten 13.
- Kassanis, 1939: Annals applied biology 17. Zitiert nach Bawden 1950.
- Kenda, Thaler und Weber, 1951: Kern-Kristalloide in Stomata-Zellen? Protoplasma 40.
- Kleinhahn, 1928: Experimentelle und cytologische Untersuchungen im Anschluß an Alloiophyllie und Viruskrankheiten. Planta 6.
- Kohl, 1897: Die Protoplasmaverbindungen der Spaltöffnungsschließzellen und der Moosblattzellen. Botan. Centralbl. 72.
- Kraus, 1872: Über Eiweißkristalloide in der Epidermis von *Polypodium ireoides* Lam. Jahrb. wiss. Bot. 8.
- Küster, 1948: Über die Eiweißspindeln von *Impatiens*. Biolog. Zirbl. 67.
- Littau and Black, 1952: Spherical inclusions in plant tumors caused by a virus. Americ. J. Botany 39.
- Mikosch, 1908: Über den Einfluß des Reises auf die Unterlage. Wiesner-Festschrift (Linsbauer), Wien.
- Mikroskopische und Chemische Organisation der Zelle. 2. Colloquium der deutschen Gesellschaft für Physiologische Chemie. 1952. Berlin-Göttingen-Heidelberg.

286 Friedl Weber, Griseldis Kenda u. Irmtraud Thaler: Viruskörper in Kakteen-Zellen

- Milovidov, 1952: Physik und Chemie des Zellkernes. II. Teil. Protoplasma-Monographien 20. Berlin. Im Druck.
- Romeis, 1943: Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 14. Aufl. München.
- Rosenzopf, 1951: Sind Eiweißspindeln Virus-Einschlusfkörper? Phyton (Austria) 3.
- Schrader, 1949: Mitosis. New York.
- Sheffield, 1936: The role of plasmodesms in the translocation of viruses. Ann. Appl. Biol. 23.
- Weber, 1951: Viruskörper fehlen den Stomazellen. Protoplasma 40.
- 1951: Trypanoplasten-Viruskörper von *Rhipsalis*. Phyton (Austria) 3.
- und Kenda, 1952: Cactaceen-Virus-Eiweißspindeln. Protoplasma 41.

Permeabilitätsstudien mit Fettsäureamiden

Von

Walter Url

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien)

Mit 5 Textabbildungen

(Eingelangt am 2. April 1952)

Einleitung

Während ich mit Versuchen über die Verteilung der Plasmapermeabilität in Epidermen und Subepidermen verschiedener krautiger Pflanzen beschäftigt war, erhielt ich im Frühjahr 1950 die neuen Permeabilitätsarbeiten Collanders (1949, 1950, Collander und Wikström 1949). Die in der einen Arbeit beschriebene „Simultanmethode“ zur qualitativen Bestimmung der Permeabilität, von Collander vor allem dazu benutzt, die porengünstigte Permeabilität der kleinmolekularen Anfangsglieder homologer Reihen (Fettsäureamid-, Ammoniak-Methylamin-Trimethylamin-, Harnstoff-Alkylharnstoff-Reihe) zu zeigen, regte mich an, auch zu meiner Fragestellung entsprechende Versuche mit Fettsäureamiden anzustellen.

Collander hat sehr verschiedene Zellsorten geprüft (*Spirogyra* sp., *Zygnema* sp., *Majanthemum bifolium*-Subepidermis, *Taraxacum officinale*-Epidermis und Subepidermis der Blattrippenoberseite, *Lamium purpureum* und *L. hybridum*-Stengelepidermiszellen, Inneneplidermis von *Allium cepa*, Blattzellen von *Elodea densa*); er gibt für alle ein sehr ähnliches Permeabilitätsverhalten für Formamid, Acet- und Propionamid an. In alle Zellen dringt das kleinmolekulare Formamid (Mol.-Gew.: 45, Mol.-Vol.: 46,7) schneller ein als Acetamid (Mol.-Gew.: 59, Mol.-Vol.: 68,7), dieses immer langsamer als Propionamid (Mol.-Gew.: 71,5, Mol.-Vol.: 90,7). Propionamid dringt meist etwas schneller ein als Formamid. Für die kleinen Moleküle des Formamids scheinen also „Porenwege“ offen zu stehen.

Mit Hilfe der Collanderschen Simultanmethode sollten zunächst auch für die drei Fettsäureamide die Permeabilitätsunterschiede zwischen den verschiedenen Geweben des Stengels gezeigt werden. Zweitens sollte es vorerst doch möglich scheinen, Plasmen zu finden, die eine so dichte Struktur aufweisen, daß selbst dem kleinen Formamid keine oder nur sehr beschränkte Porenwege zur Verfügung stehen. Solche Plasmen waren an der höheren Pflanze vor allem in den tieferliegenden Parenchymsschichten zu suchen, die ja vielfach eine noch wesentlich geringere (und auch absolut sehr niedrige) Permeabilität als Epidermen und Subepidermen aufweisen (vgl.

Url 1952). Die fast gleiche Größe der Moleküle von Harnstoff und Acetamid und der Moleküle von Methylharnstoff und Propionamid drängte weiter folgende Frage auf: Wie verhält sich Acetamid im Vergleich zu Propionamid bei Plasmen vom „rapiden Harnstofftyp“, also dort, wo der kleinmolekulare Harnstoff schneller permeiert als der größere, aber besser lipoidlösliche Methylharnstoff? Fürs erste wäre eine „rapide Acetamidpermeabilität“ zu erwarten, die sich dadurch äußern müßte, daß Acetamid zunächst schneller permeiert, als es seiner relativen Lipoidlöslichkeit entspricht, weiter aber — in Analogie zur „porengeförderten“ Harnstoffpermeabilität, von der die meisten Autoren dort sprechen, wo Harnstoff ebenso schnell oder gar schneller als Methylharnstoff permeiert —, daß Acetamid ähnlich schnell oder schneller als Propionamid eindringt.

Methodik

Zur Feststellung der (qualitativen) Permeabilitätseigenschaften der zu untersuchenden Zellsorten für Fettsäureamide bediente ich mich der Simultanmethode Collanders (1949). Diese bedient sich des plasmometrischen Messungsverfahrens nach Höfner und ist ihrem Wesen nach eine Partialmethode (vgl. Bärlund 1929, Hofmeister 1935). Die Methode erlaubt es, die Permeation von zwei Verbindungen am selben Protoplasten gleichzeitig zu beobachten. Das wird durch folgende Versuchsanordnung erreicht: Das zu untersuchende Material (in unserem Fall handelt es sich ausschließlich um Schnitte vom Stengel höherer krautiger Pflanzen) wird in einer Lösung einer nicht permeierenden Substanz vorplasmolysiert. Als „osmotische Unterlage“ diente immer Traubenzucker. Sind die Zellen in der reinen Traubenzuckerlösung nun plasmolysiert, so ersetzt man diese durch eine zweite Lösung, welche die gleiche Konzentration Traubenzucker, zusätzlich aber noch eine gewisse Menge des zu untersuchenden Diosmotikums, in unserem Falle also eines Fettsäureamids, enthält. Die höhere nun wirksame Konzentration wird eine weitere Zusammenziehung der Protoplaste verursachen, der eine schrittweise — auf das Permeieren der Zusatzsubstanz zurückzuführende — Wiederausdehnung folgt.

Soweit ist die Verfahrensweise gleich der Hofmeisterschen Partialmethode und die aus den Messungen erhaltene Wiederausdehnungskurve kann zum Berechnen der Permeationskonstante P' verwendet werden.

Wenn der Protoplast seine Gleichgewichtsgröße erreicht hat, so ist die Konzentration des Diosmotikums, z. B. von Acetamid, in der Außenlösung gleich der Konzentration des Stoffes im Zellsaft. Im Simultanversuch ersetzt man nun diese Lösung durch eine zweite welche wiederum die gleiche Zuckerkonzentration aufweist, aber als Zusatz ein anderes Diosmotikum, etwa Formamid (in der gleichen Konzentration wie das erste Zusatzdiosmotikum), enthält. Nun dringt Formamid in die Zelle ein, Acetamid exosmiert gleichzeitig aus dem Zellsaft. Drei Möglichkeiten sind nun für das Verhalten des Protoplasten gegeben: Erstens kann das Volumen gleich bleiben. Das zeigt, daß die Totalkonzentration im Zellsaft gleich bleibt, Acetamid also ebenso schnell exosmiert, als Formamid permeiert. Erfolgt eine Zu-

sammenziehung der Protoplaste, so zeigt dies, daß Acetamid schneller aus dem Zellsaft dringt, als Formamid permeiert. Erfolgt endlich eine Ausdehnung der Protoplaste, so dringt in diesem Falle Formamid schneller in den Zellsaft ein, als Acetamid exosmiert.

Zur Beobachtung der Volumsänderungen benutzte ich eine ähnliche Plasmolysekammer wie Collander (1949, S. 305). Auf einem Objekträger wurden zwei dicke Deckglasstreifen (je 26 mm lang) mit Kanadabalsam so aufgeklebt, daß sie zwischen sich einen Kanal von etwa 6 mm Breite frei ließen. Vor Gebrauch wurde auf die beiden Deckglasstreifen zunächst Vaseline gestrichen, in den Kanal ein wenig von der Lösung getropft und der Schnitt eingebracht. Als Bedeckung wurde schließlich ein passendes Deckglas so über die Kammer gelegt, daß die Vaseline eine völlige Abdichtung gegen die Breitseiten bewirkte. Diese Kammer wurde auf den schwach nach links geneigten Tisch des Mikroskops gelegt.

Die Lösung tropfte ich vor die rechte Öffnung der Kammer und saugte mit einer dünn ausgezogenen Pipette auf der anderen Seite ab.¹ Durch dieses Absaugen wurde ein sehr rascher Austausch der Lösungen erreicht, doch machten die hohen Durchströmungsgeschwindigkeiten eine Befestigung des Schnittes im Kanal nötig. Meist benutzte ich dazu kleine Deckglassplitter, die den Schnitt auf der einen Seite zwischen dem Boden der Kammer und dem bedeckenden Deckglas einklemmten, zuweilen auch Schnitte, die so hergestellt waren, daß sie an dem einen Ende einen dicken Teil besaßen, der die gleiche Funktion ausübte. Besonders wurde darauf geachtet, daß die Lösungsreste, die nach dem Absaugen auf der Einlaufseite verblieben, immer sorgfältig entfernt wurden.

Das Zuführen frischer Lösung geschah in solchen Abständen, daß eine Konzentrationsschwankung in der Kammer nicht erfolgen konnte. Zumeist wurde alle 5 bis 6 Minuten frische Lösung durchgesaugt, bei länger dauernden Versuchen längstens nach 10 Minuten.

Die Amidkonzentration betrug bei meinen Versuchen in den meisten Fällen 0,5 mol. Diese niedere Konzentration vermeidet weitgehend eine Schädigung der Protoplaste und wurde deshalb auch dort nicht höher angesetzt, wo wegen der raschen Permeation nur geringe Volumsänderungen (Simultaneffekte) zu verzeichnen waren.

Die verwendeten Stoffe waren reinste Präparate von Merck (Traubenzucker, Formamid, Acetamid) und von Schering-Kahlbaum (Propionamid).

Versuche

Die bekannten Permeabilitätsunterschiede zwischen Epidermis und Subepidermis der Stengel höherer krautiger Pflanzen (vgl. Höfle r und Stiegler 1921, 1930, Schmidt 1939, Url 1951, 1952) zeigen sich auch im Simultanversuch mit Fettsäureamiden. Als Beispiel sei ein Versuch an *Gentiana cruciata*, auf den sich die graphische Darstellung der Abb. 1 bezieht, angegeben. Die Epidermis des Materials zeigte einen „rapiden Harnstofftyp“. In 2,0 molarer Harnstofflösung betrug die Deplasmolysezeit rund 3 bis

¹ Collander ließ dagegen die Lösungen aus einer Proberöhre, deren Ende zu einem dünnen Röhrchen ausgezogen war, kontinuierlich vor die Einlauföffnung tropfen und auf der anderen Seite ablaufen. (Seine Kammer war auch höher, da auch auf dem Deckglas, ähnlich wie auf dem Objekträger, Streifen aufgeklebt waren.)

4 Minuten, in gleichkonzentrierter Methylharnstofflösung 5 bis 7 Minuten. Die Subepidermis war für Harnstoff vielfach niedriger permeabel, wie dies ja auch bei anderen Objekten, wo die Epidermis einen „rapiden Harnstofftyp“ zeigt, der Fall ist (im Gegensatz zu anderen, größermolekularen Diosmotika, wo der Quotient $\frac{\Delta G \text{ Epidermis}}{\Delta G \text{ Subepidermis}}$ Werte meist nur bis 4 erreicht (vgl. Url 1951).

In unserem Versuch wurde je eine Zelle der Epidermis und der Subepidermis gemessen. Die Messung der Subepidermiszelle erfolgte stets 30 Sekunden nach der entsprechenden Epidermis-Messung. Der Schnitt kam nach einer Wässerung von zwei Stunden um 9^h30' in die Lösung von 1,0 mol Traubenzucker. Nach einstündiger Vorplasmolyse wurde der Schnitt in die Kammer übertragen. Alle Zellen zeigten schöne Systrophen. 10^h53' wurde die erste kombinierte Lösung (1,0 mol Traubenzucker + 0,5 mol Acetamid) durch die Kammer gesaugt. Der graphischen Darstellung des Versuches in Abb. 1 liegen die im Protokoll wiedergegebenen Werte für die Länge des Protoplasten zugrunde.

Gentiana cruciata

21. Juni 1950

In 1,0 mol Traubenzucker 9^h30'

Epidermiszelle: $l = 60,8$, $h = 75$, $b = 11$ $G = 0,761^2$

Subepidermiszelle: $L = 51,5$, $h = 67$, $b = 14$ $G = 0,698$

10^h53' Zusatz der Mischlösung 1,0 mol Traubenzucker + 0,5 mol Acetamid.

	10 h	35'	36'	37'	38'	40'	43'	45'	47'	49'	52'	57'	11 h 01'	04'
Epidermis	$l =$	58	57	56,5	56,9	58	60	60,7	61	61,1	61,2	61,2	61,2	61,2
	$G =$	0,724	0,711	0,705	0,710	0,724	0,751	0,780	0,764	0,765	0,767	0,767	0,767	0,767
Subepidermis	$l =$	46	45	44,5	45	46	47	48,5	49	49,5	50	51	51	51,2
	$G =$	0,616	0,602	0,595	0,602	0,616	0,632	0,654	0,662	0,680	0,676	0,691	0,691	0,695

11^h05' Zusatz der Mischlösung 1,0 mol Traubenzucker + 0,5 mol Formamid.

	11 h	07'	08'	09'	11'	13'	15'	17'	20'	26'	31'	36'	40'
Epidermis	$l =$	63	64,6	65	65	64	63	62	61,5	60,9	60,8	60,8	60,7
	$G =$	0,791	0,812	0,817	0,817	0,805	0,791	0,777	0,771	0,762	0,761	0,761	0,760
Subepidermis	$l =$	53	54	55	55,5	56	56	55,5	55	53	52	51,5	51,5
	$G =$	0,721	0,736	0,751	0,759	0,765	0,765	0,759	0,751	0,721	0,707	0,698	0,698

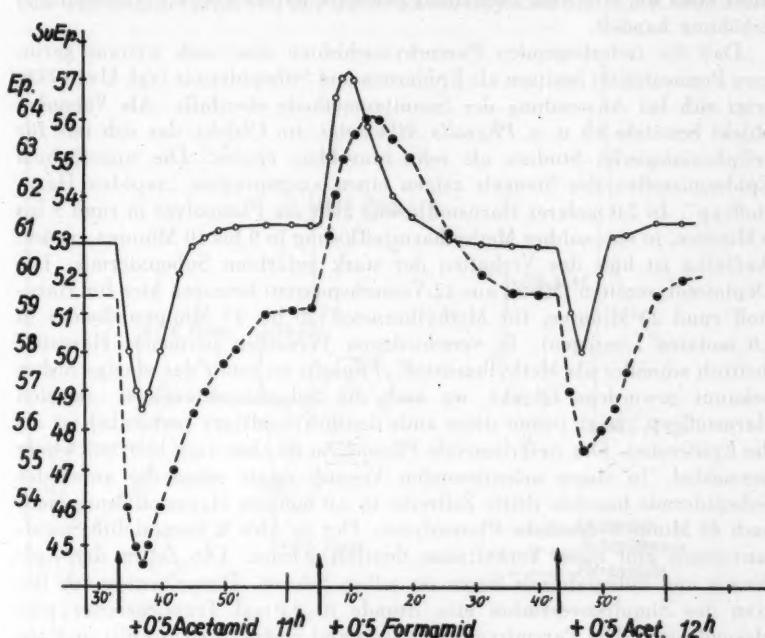
11^h43' Zusatz der Mischlösung 1,0 mol Traubenzucker + 0,5 mol Acetamid.

	11 h	45'	47'	50'	52'	54'	56'	12 h 03'
Epidermis	$l =$	59	58	60	61	61	61,3	61,3
	$G =$	0,738	0,724	0,751	0,764	0,764	0,768	0,768
Subepidermis	$l =$	49	47,5	48	48,5	49,5	51,5	51,9
	$G =$	0,662	0,639	0,647	0,654	0,669	0,698	0,705

² G , der Plasmolysegrad der Zelle, wurde nach der plasmometrischen Methode Höflers errechnet, von der genaue Darstellungen vielfach vorliegen (Höfler 1918, 1934, Hofmeister 1935, Rottenburg 1943, Biebl 1948). G errechnet sich aus

der plasmometrischen Grundgleichung $G = \frac{l - \frac{b}{3}}{h}$. l bedeutet die Länge des Protoplasten (nach Abrundung), h ist die innere Zelllänge und b die innere Zellbreite.

Die graphische Darstellung zeigt deutlich die Überlegenheit der Epidermis. Zunächst ist diese daraus zu ersehen, daß der Protoplast der Subepidermis eine längere Zeit benötigt, um etwa das gleiche Volumen wie vor dem Zusatz der Mischlösung zu erreichen. (In der Epidermis erfolgt der

Abb. 1. *Gentiana cruciata*.

Ausgleich nach etwa 17 Minuten, in der Subepidermis nach rund 25 Minuten.) Auch ist die Zusammenziehung des Protoplasten in der Epidermis nach Zusatz der ersten Mischlösung geringer als in der Subepidermis, was darauf zurückzuführen ist, daß bis zum Umkehrpunkt, wo sich die Protoplasten wieder auszudehnen beginnen, in der Epidermis schon eine größere Stoffmenge eingedrungen ist als in der Subepidermis. Nach Zusatz der Formamid-Mischlösung dehnen sich die Protoplasten beträchtlich aus. Das zeigt, daß Formamid deutlich schneller eindringt, als Acetamid exosmieren kann; das Ausgangsvolumen wird erst nach einer gewissen Zeitspanne wieder erreicht. Auch dieser Simultaneffekt verläuft, wie die Abbildung zeigt, in der Subepidermis langsamer als in der Epidermis. Nach abermaligem Zuführen der Acetamid-Mischlösung kontrahieren sich die Protoplasten wieder, natürlich aber nicht mehr so stark wie beim ersten Zusatz der Mischlösung, weil ja die jetzt wiederholte Kontraktion von dem (schnelleren) Exosmieren des in gleicher Konzentration im Zellsaft vorhandenen Formamid abhängt und es sich also nicht wie beim ersten Mischlösungszusatz um

eine Kontraktion unter der alleinigen Wirkung einer höheren Außenkonzentration handelt. Diese abermalige Kontraktion zeigt auch, daß tatsächlich das Formamid schneller permeiert als Acetamid und es sich bei der Ausdehnung der Protoplaste nach dem Zusatz der Formamid-Mischlösung nicht etwa um eine vom Formamid bewirkte pathologische Permeabilitäts erhöhung handelt.

Daß die tieferliegenden Parenchym schichten eine noch weitaus geringere Permeabilität besitzen als Epidermis und Subepidermis (vgl. Url 1952), zeigt sich bei Anwendung der Simultanmethode ebenfalls. Als Versuchs objekt benützte ich u. a. *Physalis Alkekengi*, ein Objekt, das sich mir für zellphysiologische Studien als sehr brauchbar erwies. Die ungefärbten Epidermiszellen des Stengels zeigen einen ausgeprägten „rapiden Harnstofftyp“. In 2,0 molarem Harnstofflösung geht die Plasmolyse in rund 5 bis 6 Minuten, in ebensolcher Methylharnstofflösung in 9 bis 10 Minuten zurück. Auffällig ist hier das Verhalten der stark gefärbten Subepidermis. Die Deplasmolysezeiten (Mittel aus 12 Versuchspaaren) betragen hier für Harnstoff rund 20 Minuten, für Methylharnstoff 20 bis 23 Minuten (beides in 2,0 molaren Lösungen). In verschiedenen Versuchen permeiert Harnstoff deutlich schneller als Methylharnstoff. *Physalis* ist somit das einzige bisher bekannt gewordene Objekt, wo auch die Subepidermis einen „rapiden Harnstofftyp“ zeigt (wenn diese auch deutlich niedriger permeabel ist als die Epidermis). Das tieferliegende Parenchym ist aber auch hier nur wenig permeabel. In einem orientierenden Versuch zeigte schon die unter der Subepidermis liegende dritte Zellreihe in 2,0 molarer Harnstofflösung noch nach 40 Minuten deutliche Plasmolysen. Der in Abb. 2 dargestellte Simultanversuch gibt diese Verhältnisse deutlich wieder. Die Zellen der Epidermis und Subepidermis liegen im selben Schnitt. Dieser wurde vor Beginn des Simultanversuches eine Stunde in 1,0 mol Traubenzucker vorplasmoliert. Die Parenchymzelle entstammt einem Stufenschnitt und lag etwa in der 5. bis 6. Zellreihe unter der Epidermis. Beiderseits befand sich eine lebende Zellschichte. Die Dauer der Vorplasmolyse betrug hier 50 Minuten. Die Plasmolysegrade in 1,0 mol Traubenzucker vor Zusetzen der ersten Mischlösung betragen: Epidermis 0,557, Subepidermis 0,516, Parenchym 0,438.

Die graphische Darstellung der Versuche in Abb. 2 zeigt deutlich, daß die Permeabilität der Epidermis am größten ist. Während sich in der Epidermis nach Zusatz der Acetamid-Mischlösung das ursprüngliche Protoplastenvolumen schon nach 5 bis 6 Minuten einstellt, dauert dieses in der Subepidermis rund 20 Minuten und im Parenchym über eine Stunde. Auch verursacht das Austauschen der Mischlösungen in der Epidermis nur geringe Volumänderungen³ der Protoplasmata, wogegen diese im Parenchym sehr kräftig sind. Trotz der großen Permeabilitätsunterschiede zwischen Epidermis und Parenchym ist, wie bei *Gentiana Sturmiana* (vgl. Höfler 1949, S. 112), auch bei *Physalis* die Wasserpermeabilität der verschiedenen

³ Für so hoch permeable Zellsorten eignet sich — besonders bei niedrigen Zusatzkonzentrationen — deshalb die Simultanmethode nur beschränkt.

Gewebeschichten praktisch gleich, wie eine Betrachtung der Plasmolysekurve nach Zusatz der ersten Mischlösung zeigt.

Collander zeigte, daß bei allen seinen Objekten Formamid schneller eindringt als Acetamid, dieses wiederum immer langsamer als Propionamid. Das war auch bei allen von mir untersuchten Objekten der Fall (*Campanula*,

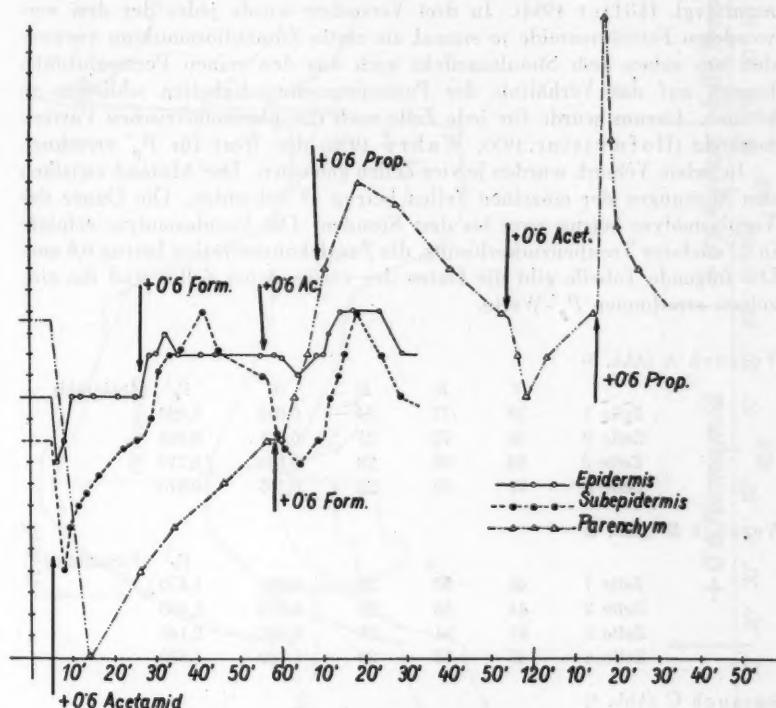


Abb. 2. *Physalis Alkekengi*.

rapunculoides, Epidermis und Subepidermis des Stengels; *Gentiana cruciata*, Epidermis und Subepidermis des Stengels; *Homogyne alpina*, Epidermis und Subepidermis des Stengels; *Taraxacum officinale*, Epidermis, Subepidermis und Parenchym des Blütenstiels; *Physalis Alkekengi*, Epidermis, Subepidermis und Parenchym des Stengels; *Gentiana Sturmiana*, Epidermis und Subepidermis des Stengels, Korolle; *Tradescantia* sp., Parenchym; *Gymnadenia conopea*, Epidermis und Subepidermis des Blütenstiels; *Solanum tuberosum*, Epidermis und Subepidermis des Stengels).

Unter diesen Zellsorten fand sich also keine mit so „dichtem“ Plasma, daß selbst das so kleinmolekulare Formamid allein auf den Lösungsweg angewiesen wäre. Immer permeierte es schneller als das besser lipoidlösliche, aber größermolekulare Acetamid. Das war auch bei einer letzten Zellsorte,

den Parenchymzellen aus der Blattmittellrippe des Farnes *Blechnum spicant* der Fall. Nach einer Mitteilung von Prof. Höfler weist die Permeabilitätsreihe dieser auch absolut sehr niedrig permeablen Zellsorte — im Vergleich zur relativen Lipoidlöslichkeit der Stoffe — darauf hin, daß hier der Harnstoff ausschließlich auf den Lösungsweg (Lipoidweg) angewiesen ist; dabei liegen die absoluten Permeabilitätswerte noch niedriger als bei *Majanthemum* (vgl. Höfler 1934). In drei Versuchen wurde jedes der drei verwendeten Fettsäureamide je einmal als erstes Zusatzdiosmotikum verwendet, um neben dem Simultaneffekt auch aus den reinen Permeabilitätskurven auf das Verhältnis der Permeiergeschwindigkeiten schließen zu können. Daraus wurde für jede Zelle nach der plasmometrischen Partialmethode (Hofmeister 1935, Wahry 1936) der Wert für P_p' errechnet.

In jedem Versuch wurden je vier Zellen gemessen. Der Abstand zwischen den Messungen der einzelnen Zellen betrug 15 Sekunden. Die Dauer der Vorplasmolyse betrug zwei bis drei Stunden. Die Vorplasmolyse erfolgte in 0,7 molarer Traubenzuckerlösung, die Zusatzkonzentration betrug 0,6 mol. Die folgende Tabelle gibt die Daten der verwendeten Zellen und die einzelnen errechneten P_p' -Werte.

Versuch A (Abb. 3)

	<i>l</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>G</i>	P_p' (Acetamid)
Zelle 1	58	77	24	0,649	1,980
Zelle 2	54	70	21	0,671	0,664
Zelle 3	59	75	23	0,684	0,770
Zelle 4	51	62	22	0,705	0,810

Versuch B (Abb. 4)

	<i>l</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>G</i>	P_p' (Formamid)
Zelle 1	45	55	20	0,697	1,470
Zelle 2	44	55	21	0,673	1,480
Zelle 3	43	54	21	0,666	2,140
Zelle 4	45	53	20	0,722	1,890

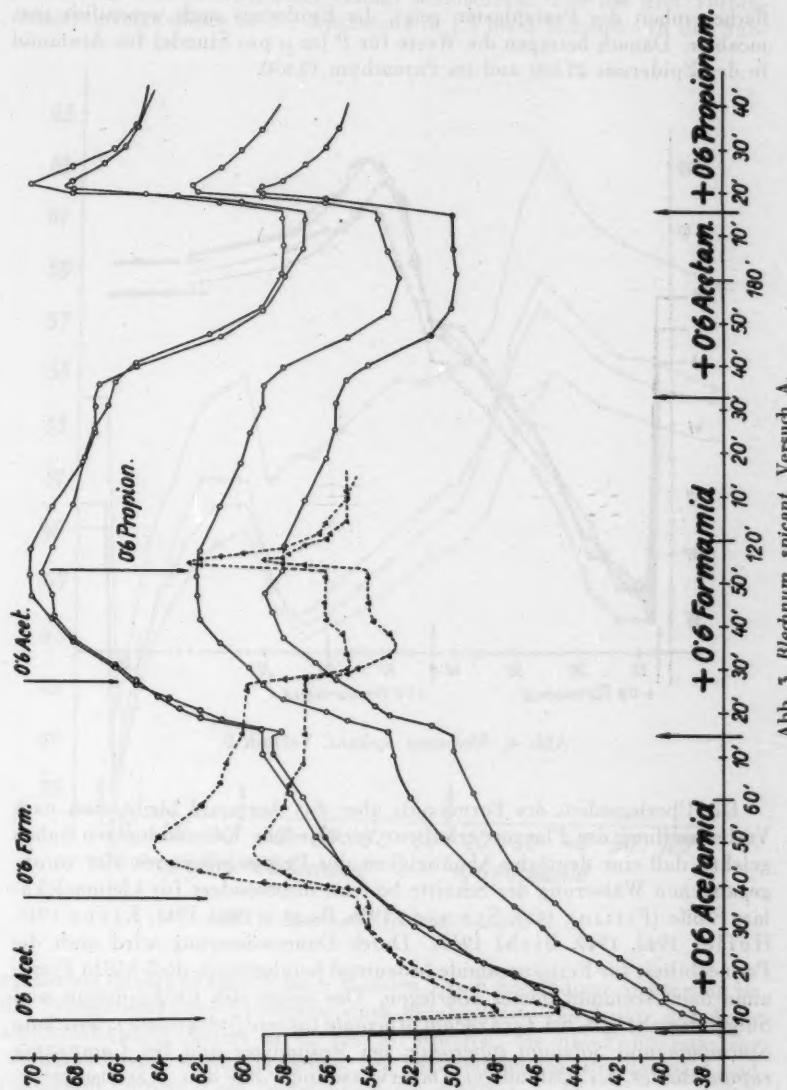
Versuch C (Abb. 5)

	<i>l</i>	<i>h</i>	<i>b</i>	<i>G</i>	P_p' (Propionamid)
Zelle 1	50	78	20	0,556	3,700
Zelle 2	50	75	19	0,583	1,880
Zelle 3	49	70	19	0,609	2,750
Zelle 4	54	80	19	0,596	2,840

Mittel der P_p' : Acetamid = 1,056, Formamid = 1,745, Propionamid = 2,792.

Die Abbildungen zeigen, daß die aus den P_p' -Werten ersichtlichen Permeabilitiesverhältnisse sich in den Simultaneffekten gut widerspiegeln. Interessant ist, daß auch bei diesem Farn die Epidermis eine deutlich höhere Permeabilität besitzt. Der Verlauf eines Versuches an der Epidermis ist in Abb. 3 punktiert eingezeichnet. Der Schnitt stammt von derselben Pflanze, mit der auch die Parenchymversuche durchgeführt wurden. Der Wechsel der Zusatzdiosmotika erfolgte in derselben Weise wie im Parenchymver-

such A. Bei Vergleich der Kurven zeigt sich die höhere Permeabilität der Epidermis aufs deutlichste, doch ist zu bedenken, daß die Zellen der Epi-



Abh. 5. *Blechnum spicant*, Versuch A.

dermis wesentlich kleiner als jene des Parenchyms sind. Auch besitzen die Epidermiszellen Formen, die für plasmometrisches Arbeiten weniger günstig

sind, da die Zellwände gewellt sind, wenn auch der Umriß nahezu rechteckig ist.

Trotzdem ist aber, wie eine Reduktion der P_p' -Werte auf die Oberflächeneinheit des Protoplasten zeigt, die Epidermis noch wesentlich permeabler. Danach betragen die Werte für P (in μ pro Stunde) für Acetamid in der Epidermis 25.600 und im Parenchym 12.650.

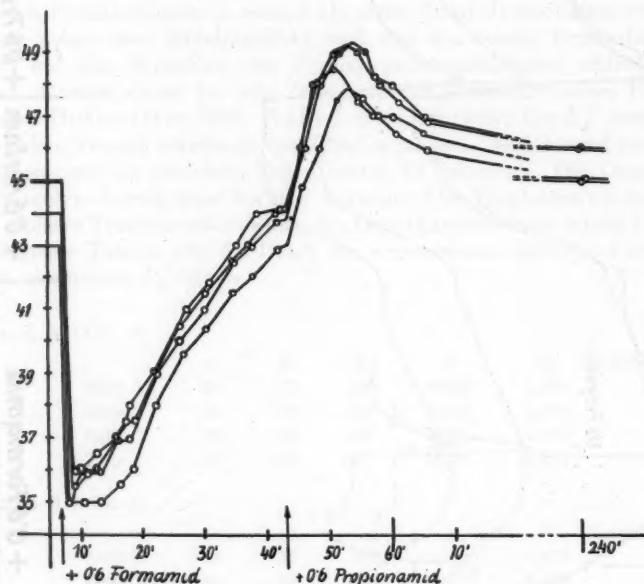


Abb. 4. *Blednum spicant*, Versuch B.

Die Überlegenheit des Formamids über das Acetamid bleibt auch nach Vorbehandlung des Plasmas erhalten. Verschiedene Untersuchungen haben gelehrt, daß eine deutliche Abhängigkeit der Permeabilität von der vorangegangenen Wässerung der Schnitte besteht, insbesondere für kleinmolekulare Stoffe (Fitting 1915, Schmidt 1936, Bogen 1940, 1941, Kreuz 1941, Höfler 1942, 1949, Biebl 1948). Durch Dauerwässerung wird auch die Permeabilität für Fettsäureamide bedeutend herabgesetzt, doch bleibt Formamid dem Acetamid immer überlegen. Das zeigte sich (in Epidermis und Subepidermis) z. B. bei *Taraxacum officinale* (untere Stengelzone), *Gentiana Sturmiana* und *Solanum tuberosum* bei 36stündiger und bei *Campanula rapunculoides* bei 62stündiger Dauerwässerung. Bei den Wässerungsversuchen an *Campanula* wurde durch die Vorbehandlung Acetamid scheinbar am stärksten gehemmt. Bei diesem Objekt, dessen Epidermis einen ausgeprägten „rapiden Harnstofftyp“ zeigt (vgl. Kreuz 1941), erreicht man bei

ungewässertem Material wegen der hohen Permeabilität mit den geringen Zusatzkonzentrationen wieder nur kleine Simultaneffekte. Auch der Ausgleich nach dem ersten Zusatz erfolgt sehr schnell. Für die drei Verbindungen erfolgt dieser in der Epidermis in 1,5 bis 2 Minuten. In der Sub-

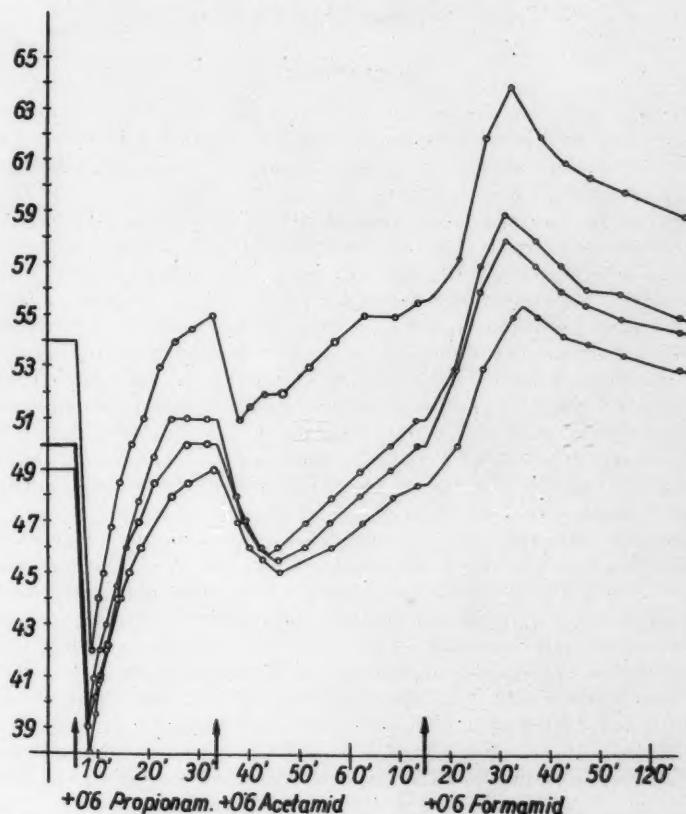


Abb. 5. *Blechnum spicant*, Versuch C.

epidermis dauert es rund 5 bis 6 Minuten. Nach 62ständiger Wässerung ist die Permeabilität der Epidermis stark herabgesetzt. Bei Zusatz der Acetamidmischlösung dauert es 12 bis 15 Minuten, bis die Protoplaste ihr Anfangsvolumen wieder erreichen, bei Verwendung von Propionamid und Formamid beträgt diese Zeitspanne 6 bis 8 Minuten. Die nun wesentlich stärkeren Simultaneffekte stehen damit in Einklang.

Neben Dauerwässerung vermag auch lange Vorplasmolyse zwar die Permeabilität bedeutend herabzusetzen, doch bleibt gleichfalls die Über-

legenheit des Formamids über das Acetamid erhalten. Nach 30stündiger Vorplasmolyse erreichen in der Acetamid-Mischlösung Epidermis-Protoplaste von *Gentiana cruciata* erst in 20 bis 22 Minuten wieder ihr Ausgangsvolumen, doch permeiert auch hier Formamid deutlich schneller (bei nicht vorbehandeltem Material erreichen in der Acetamid-Mischlösung die Protoplaste in etwa 14 Minuten den Ausgleich, vgl. Abb. 1).

Besprechung

Wir sehen, daß — wie bei den von Collander geprüften Pflanzen — auch bei unseren Versuchspflanzen für die drei geprüften Fettsäureamide das Verhältnis der Permeationsgeschwindigkeiten Formamid > Acetamid und Propionamid > Acetamid gilt.

Wenden wir zunächst unser Augenmerk der Tatsache zu, daß Propionamid immer schneller als Acetamid permeiert. Im Simultanversuch scheint diese Tatsache immer sehr deutlich auf. Sogar bei Versuchen mit sehr hoch permeablen Protoplasten, wie denen der Epidermis von *Physalis*, *Taraxacum officinale* (obere Zone) und *Campanula rapunculoides*, wo beim Austausch der Formamidmischlösung gegen eine solche mit Acetamid oder umgekehrt manchmal kaum ein Simultaneffekt auftritt, ist dieser beim Tausch von Acetamid gegen Propionamid immer sehr gut erkennbar. Das ist eigentlich merkwürdig. Acetamid besitzt ungefähr das gleiche Molekulargewicht wie Harnstoff (59 bzw. 60), Propionamid wiederum ein ähnliches wie Methylharnstoff (71 bzw. 74). Auf Grund dessen sollte eigentlich Acetamid ein dem Harnstoff gleiches Vermögen besitzen, den Porenweg zu benützen, und z. B. bei „rapiden Harnstofftypen“ wesentlich schneller permeieren können, als es seiner relativen Lipoidlöslichkeit nach zu erwarten wäre. Dennoch sehen wir bei keinem der untersuchten Protoplasten, die diesem Typ angehören, das Anzeichen einer „rapiden Acetamidpermeabilität“, nämlich derart, daß das kleinmolekulare Acetamid — dem der Porenweg offen stünde — dem großmolekularen aber besser lipoidlöslichen Propionamid nahekäme. Gleichfalls vermissen wir beim Acetamid einen Zug, der doch für Harnstoff beim Vergleich von Epidermis und Subepidermis in Fällen, wo die Epidermis einen „rapiden Harnstofftyp“ darstellt, so auffallend ist, nämlich die starken Permeabilitätsunterschiede zwischen den beiden Gewebsschichten. Beim

Harnstoff erreicht in solchen Fällen der Quotient $\frac{\Delta G_{\text{Epidermis}}}{\Delta G_{\text{Subepidermis}}}$ Werte bis weit über 10, während für andere Diosmotika (Glyzerin, Methylharnstoff, Erythrit, Malonamid) der Quotient kleiner bleibt (vgl. Url 1951). Acetamid permeiert in die Epidermis nun zwar auch immer schneller als in die Subepidermis, aber die Unterschiede erscheinen wesentlich kleiner (vgl. Abb. 1, Abb. 2).

Wie lassen sich diese Verhältnisse erklären? Die starke und auch in Fällen „rapider Harnstofftypen“, also hoch porenpemeabler Plasmen, vorhandene Überlegenheit des Propionamids über das Acetamid resultiert wohl zunächst zum Teil aus der relativen Löslichkeit der Substanzen, wie die folgende Tabelle zeigt.

Verhältnis der Verteilungskoeffizienten
(nach Collander 1949 und Collander und Wikström 1949).

	Äther Wasser	Olivenöl Wasser	Olivenöl + Ölsäure Wasser
Methylharnstoff/Harnstoff	2,6	2,9	1,8
Acetamid/Formamid	1,8	1,1	1,9
Propionamid/Acetamid	5,2	4,3	3,9

Propionamid besitzt also im Vergleich zu Acetamid eine wesentlich höhere Löslichkeit als der Methylharnstoff, verglichen mit Harnstoff. Danach würde also eine eventuelle zusätzliche Porenpermeation des Acetamids stark von der wesentlich höheren Löslichkeit des Propionamids überdeckt werden. Allerdings sprechen die sehr ausgeprägten Simultaneffekte nach Austausch der Acetamidmischlösung durch die Mischlösung mit Propionamid gegen eine irgendwie bedeutende Porenpermeation des Acetamids; die Simultaneffekte zeigen eher, daß der große Unterschied der relativen Löslichkeit von Acetamid und Propionamid die beobachteten Permeabilitätsverhältnisse bedingt. Es ist also, was das Acetamid betrifft, wahrscheinlich, daß auch in solchen Fällen, wo dem etwa gleich großen Harnstoff ein relativ weiter Porenweg offen steht, dieser dem Fettsäureamid verschlossen bleibt.

Eine sehr wahrscheinliche Erklärung für diese Verhältnisse gibt uns eine der jüngsten Arbeiten Wartiovaaras (Wartiovaara und Tikkanen 1951). Die Autoren legen sich im besonderen die Frage vor, wieso es dem Harnstoff so oft und so leicht möglich ist, den Porenweg zu benutzen, der dem nur wenig größeren Methylharnstoffmolekül immer verschlossen bleibt. Versuche mit Harnstoff, Methylharnstoff, Sulfoharnstoff und Dimethylharnstoff bei verschiedenen Temperaturen und die Betrachtung der Temperaturkoeffizienten führen die Autoren zur Annahme (S. 23): „Es scheint, wie wenn der Schwerpunkt des Harnstoffproblems zur Zeit der Molekülstruktur des permeierenden Stoffes näher als der Plasmaprozess läge. Es mag die Methylgruppe an sich, durch ihren hydrophoben Charakter, für die Veränderung des Permeationsmechanismus verantwortlich sein. Sie bildet ein Hindernis, durch dessen Einwirkung die Permeabilität um so mehr herabgesetzt wird, je tiefer die Temperatur ist, nicht so viel wegen ihrer Größe als darum, weil sie von den polaren Bestandteilen der Plasmahaut abgestoßen wird und das Molekül eine andere Lage und Bewegungsart einzunehmen zwingt. Man könnte sogar annehmen, daß die hydrophobe Seite des Methylharnstoffmoleküls zwischen die Lipoidmoleküle eingeklemmt wird, während der Harnstoff und ebenso der Thioharnstoff unbehindert an denselben vorbeigleiten. Es ist jedoch eine rein thermodynamische Behandlung ohne solche sinnbildlichen Vorstellungen vorzuziehen.“ Die Autoren gelangen zum Schluss: „Die Ultrafilterwirkung des Protoplasmas scheint mehr vom Bau der permeierenden Moleküle als von ihrer Größe abhängig zu sein.“

Auf dieser Basis erklärt sich wohl auch das Verhalten des Acetamids. Die nach der Größe des Moleküls zu erwartende Porenpermeation wird durch die Methylgruppe unmöglich gemacht oder zumindest weitgehend be-

schränkt. Die Annahme, daß für eine Ultrafilterwirkung in erster Linie der Bau des Moleküls verantwortlich ist, macht ebenso die ständige Überlegenheit des Formamids über das Acetamid verständlich, auch in solchen Fällen, wo wir es mit einem vorbehandelten oder sehr „dichten“ Plasma (z. B. *Blechnum spicant*) zu tun haben.

Ob dem Acetamid, trotz seiner Methylgruppe, doch wenigstens beschränkt bei ein oder der anderen Zellsorte Porenwege zur Verfügung stehen, können erst eingehendere Untersuchungen klären. Die erwähnten Dauerwässerungsversuche mit Stengelhautzellen von *Campanula rapunculoides* (s. S. 10) weisen vielleicht auf eine solche Möglichkeit. Während bei unbehandeltem Material die drei Fettsäureamide in die Epidermis anscheinend etwa gleich schnell eindringen (die Ausgleichszeiten und Simultaneffekte sind wegen der sehr hohen Permeabilität nur gering), geht nach Dauerwässerung Acetamid wesentlich langsamer als Propionamid und Formamid durchs Plasma. Wahrscheinlich geschieht dies deshalb, weil nach der langen Wässerung durch die nun allgemein erniedrigte Permeabilität die Unterschiede im Durchdringungsvermögen der drei Stoffe besser messbar geworden sind, als es vorher bei dem Material ohne Vorbehandlung bei den geringen Volumenschwankungen der Protoplasten möglich war.

Als Möglichkeit wäre allerdings auch daran zu denken, daß die durch die Dauerwässerung verursachte Quellung besonders die Permeation des Acetamids beeinflußt. Weniger beeinflußt wäre die Permeation des Propionamids, das ja wegen seiner Größe und besonders wegen seines Molekülbaues wohl ausschließlich auf den Lösungsweg (Lipoidweg) angewiesen ist, und auch jene des Formamids, dem wiederum seine Kleinheit und sein Bau auch nach langer Vorbehandlung die Benützung des Porenweges (Wasserweges) noch erlauben. Dagegen würden dem Acetamid durch die Dauerwässerung die schon vorher beschränkten Porenwege nunmehr völlig verschlossen.

Zusammenfassung

Permeabilitätsversuche mit Fettsäureamiden unter Verwendung der Collanderschen Simultankmethode zeigen ebenfalls die schon bekannten Permeabilitätsunterschiede zwischen den verschiedenen Gewebeschichten der Stengel krautiger Pflanzen. Wie andere Anelektryte (Harnstoff, Glyzerin, Methylharnstoff) dringen auch Formamid, Acet- und Propionamid in die Protoplasten der Epidermis am schnellsten ein, in die Subepidermis etwas langsamer und in die Protoplasten der tieferliegenden Parenchymsschichten am langsamsten.

Bei allen bisher untersuchten Zellen permeiert Formamid schneller durchs Plasma als Acetamid, dieses wiederum wesentlich langsamer als Propionamid. Trotz der etwa gleichen Größe der Moleküle von Acetamid und Harnstoff ist es dem Fettsäureamid auch in Fällen hoch porenpemeabler Plasmen vom *Gentiana Sturmiana*-Typ („rapide Harnstofftypen“) nicht möglich, den Porenweg zu benützen. Es findet sich kein Anzeichen einer porengeförderten Acetamidpermeabilität.

Mit Wartiovaara ist diese Tatsache wahrscheinlich damit zu erklären,

daß die Ultrafilterwirkung des Protoplasmas nicht nur von der Größe, sondern auch vom Bau der permeierenden Moleküle abhängt und daß beim Acetamid die hydrophobe Methylgruppe ein starkes Hindernis für die Porenpermeation darstellt.

Literatur

- Bärlund, H., 1929: Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*. *Acta Bot. Fennica* 5, 1.
- Biebl, R., 1948: Permeabilitätsversuche an der Kartoffelpflanze. *Ost. Bot. Zeitschr.* 95, 129.
- Bogen, H. J. 1940: Untersuchungen über den Quellungseffekt permeierender Anelektrolyte. I. Ionenwirkung auf die Permeabilität von *Rhoeo discolor*. *Zeitschr. Botanik* 36, 65.
— 1941: Untersuchungen über den Quellungseffekt permeierender Anelektrolyte. II. Ionenwirkung auf die Permeabilität von *Gentiana cruciata*. *Planta* 32, 150.
- Collander, R., 1949: The Permeability of Plant Protoplasts to Small Molecules. *Physiologia Plantarum* 2, 300.
- 1950: The Permeability of *Nitella* Cells to Rapidly Penetrating Non-Electrolytes. *Physiologia Plantarum* 3, 45.
- und Wikström, B., 1949: Die Permeabilität pflanzlicher Protoplaste für Harnstoff und Alkylharnstoffe. *Physiologia Plantarum* 2, 235.
- Fitting, H., 1915: Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. *Jahrb. wiss. Bot.* 56, 1.
- Höfller, K., 1918: Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 36, 414.
— 1934: Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von *Majanthemum bifolium*. *Sitzungsber. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I*, 143, 213.
— 1942: Unsere derzeitige Kenntnis von den spezifischen Permeabilitätsreihen. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 60, 179.
— 1949: Über Wasser- und Harnstoffpermeabilität des Protoplasma. *Phyton* 1, 105.
- Höfller, K. und Stiegler, A., 1921: Ein auffälliger Permeabilitätsversuch in Harnstofflösung. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 39, 157.
— und Stiegler, A., 1930: Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanze. *Protoplasma* 9, 469.
- Hofmeister, L., 1935: Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. *Bibliotheca Botanica* 113.
- Kreuz, J., 1941: Der Einfluß von Calcium und Kaliumsalzen auf die Permeabilität des Protoplasma für Glyzerin und Harnstoff. *Ost. Bot. Zeitschr.* 90, 1.
- Rottenburg, W., 1943: Die Plasmapermeabilität für Harnstoff und Glyzerin in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. *Flora, N. F.* 37, 231.
- Schmidt, H., 1936: Plasmolyse und Permeabilität. *Jahrb. wiss. Bot.* 86, 470.
— 1939: Plasmazustand und Wasserhaushalt bei *Lamium maculatum*. *Protoplasma* 53, 25.
- Url, W., 1951: Permeabilitätsverteilung in den Zellen des Stengels von *Taraxacum officinale* und anderer krautiger Pflanzen. *Protoplasma* 40, 473.
— 1952: Unterschiede der Plasmapermeabilität in den Gewebeschichten krautiger Stengel. *Physiologia Plantarum* 5, 135.
- Wahry, E., 1936: Permeabilitätsstudien an *Hippuris*. *Jahrb. wiss. Bot.* 83, 657.
- Wartiovaara, V., und Tikkanen, R., 1951: Zur Permeation des Harnstoffes in Pflanzenzellen. *Archivum Soc. Zool. Bot. Fenn. Vanamo*. 6, 19.

Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus
des Heteroauxins bei der Wasseraufnahme von
Pflanzenparenchymen

Von

L. Brauner und M. Hasman

(Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Istanbul)

Mit 5 Textabbildungen

(Eingelangt am 15. April 1952)

Einführung

In einer früheren Mitteilung (Brauner und Hasman 1949) wurden Beweise dafür geliefert, daß die von Reinders (1938, 1942) entdeckte auffällige Förderung der Wasseraufnahme von Pflanzenparenchymen durch Indolessigsäure (IES) zwei Hauptfaktoren zuzuschreiben ist: einer Erhöhung der Wasserpermeabilität des Gewebes und einer Steigerung der Duktilität seiner Zellwände. Dieser Befund gründete sich einerseits auf eine Analyse der Bestimmungskurven des Saugpotentials im Verlauf des Absorptionsvorgangs, andererseits auf direkte Messungen der Dehnbarkeit des Gewebes mittels einer Streckwaage.

Da zahlreiche Untersuchungen des letzten Jahrzehnts keinen Zweifel daran gelassen haben, daß alle bisher bekannt gewordenen zellphysiologischen Wirkungen des IES an den normalen Ablauf der Sauerstoffatmung gebunden sind (Commoner et al. 1943, Kelly 1947, Thimann 1949), war es notwendig, unsere bisherigen Befunde durch Einbeziehung anaerober Versuchsbedingungen zu ergänzen. Eine Fortführung der Analyse in dieser Richtung erschien auch zur Beurteilung einiger älterer Arbeiten wünschenswert, die sich mit der Frage der direkten Beeinflußbarkeit der Elastizitätseigenschaften „lebloser“ Zellulose durch Wuchsstoff beschäftigen (Robbins et Jackson 1937, Ruge 1937, Stewart 1938).

Ein weiteres Problem, das in unseren bisherigen Studien noch nicht experimentell behandelt worden war, betrifft die noch immer kontroverse Frage, ob an der Förderung der Wasseraufnahme durch IES auch ein Anatomosefaktor mitbeteiligt ist (Reinders 1942, Commoner et al. 1943, Overbeek 1944, Levitt 1948).

Im folgenden soll über einige ergänzende Untersuchungen dieser Beziehungen berichtet werden.

I. Dehnungsversuche

Methodik

Material: Zu sämtlichen Versuchen dieser Arbeit diente wieder eine gelbfleischige, großknollige Sorte von Winterkartoffeln, die bei guter Lagerung von Oktober bis Anfang Mai verwendbar blieb. Da sich die physiologischen Eigenschaften des Gewebes schon im Verlauf der Winterruhe und vor allem bei zunehmender Keimbereitschaft im Frühling nicht unbedeutlich veränderten, war es wesentlich, Messungen, die untereinander vergleichbar sein sollten, zu gleicher Zeit und möglichst an Material aus den gleichen Knollen auszuführen.

Messung der Dehnbarkeit: Zur direkten Ermittlung der Dehnbarkeit und der Plastizität des Gewebes bedienten wir uns einer Streckwaage, die sich bereits in unseren früheren Untersuchungen bewährt hatte (Brauner et Brauner 1943). Da die Apparatur und ihre Handhabung seinerzeit an nicht leicht zugänglicher Stelle beschrieben worden ist, seien die wichtigsten Angaben hier kurz wiederholt. Als Probestücke dienten genau dimensionierte Gewebestäbchen von 50 mm Länge, die aus der frischen Kartoffel parallel zu ihrer Längsachse herausgeschnitten wurden. Zu diesem Zweck wurde die Kartoffel zuerst in parallele Platten von 8 mm Dicke zerlegt. Die weitere Formgebung erfolgte mittels eines Doppelmessers, bestehend aus zwei Gilletteklingen, die auf einer gestielten Messingplatte in 3 mm Abstand voneinander aufgeschraubt waren. Durch zwei senkrecht zueinander geführte Schnitte wurde aus der ursprünglichen Gebeplatte ein quadratisches Stäbchen von genau 3 mm Kantenlänge gewonnen. Seine beiden Enden blieben verbreitert (vgl. Abb. 1/B), um ein Herausgleiten aus den Klammern der Streckvorrichtung zu verhindern. Im Mittelteil des Stäbchens wurde schließlich mit feinen Kakteenstacheln eine Meßstrecke von etwa 15 mm Länge abgesteckt. Die fertig präparierten Stücke wurden nunmehr in das gewählte Versuchsmedium eingebracht. Zur Herstellung aerober Bedingungen wurde in die Lösungen durch einen Kompressor dauernd ein feinverteilter Luftstrom eingeblasen. — In den anaeroben Versuchen wurden weithalsige Glasstopfenflaschen mit den frisch ausgekochten Lösungen bis zum Rande gefüllt¹, mit den Probestücken beschickt und schließlich luftblasenfrei verschlossen. Beide Behälter standen nebeneinander in einem elektrischen Thermostaten bei 25° C.

Nach Ablauf der festgesetzten Versuchszeit wurden die Proben zur Messung 2 Stunden lang in 5% Glyzerin vollkommen plasmolysiert. Um das Eindringen des Osmotikums zu beschleunigen, erwies es sich dabei als zweckmäßig, das Gewebe im Vakuum zu infiltrieren.

Die Konstruktion der Streckwaage ist aus Abb. 1/A zu ersehen. Der Balken der Waage bestand aus Aluminium und ruhte auf einer prismatischen Schneide aus Stahl. Beide Arme hatten Oktantenform. In ihre Peripherie waren Rinnen eingeschnitten, die zur Führung der Aufhängefäden für die

¹ IES-Lösungen des verwendeten Konzentrationsbereiches vertragen halbstündiges Kochen ohne nachweisbaren Verlust an Wirksamkeit.

Last dienten. Der eine Arm trug eine leichte Waagschale, der andere eine geeignete geformte Schraubklammer zur Befestigung des oberen Endes der plasmolysierten Gewebeprobe, deren unteres Ende in einer entsprechenden zweiten, an einem Stativ festgeschraubten Klammer fixiert war. Bei einer Belastung der Waagschale wurde demnach das Gewebe einer entsprechenden Zugspannung unterworfen. Während der Streckung befanden sich die

Proben wieder in 50% Glyzerin, um eine Beeinträchtigung der Meßergebnisse durch Austrocknen, vor allem aber durch die Entstehung von Kohäsionsspannungen im flüssigen Zellinhalt zu vermeiden (vgl. Overbeck (1934)).

Zur Gewährleistung stabiler Anfangsbedingungen erwies es sich als notwendig, das Präparat schon vor der Messung leicht vorzubelasten und unter dieser Anfangsspannung ins Gleichgewicht kommen zu lassen. Die eigent-

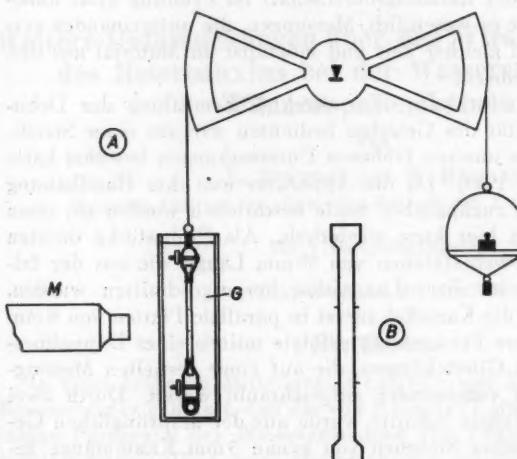


Abb. 1. A: Schema der Streckwaage (M = Meßmikroskop, G = Spiegelglasküvette, gefüllt mit 50% Glyzerin).
B: Markiertes Probestück.

liche Versuchslast wurde erst dann appliziert und die durch sie verursachte zusätzliche Verlängerung der Strecke zwischen den beiden Marken mikroskopisch gemessen. Die Waagschale hatte demnach ein konstantes Überge wicht von 15,74 g. Nach einer Ausgleichszeit von 15 min wurde die Versuchslast, in allen Messungen dieser Arbeit 20,0 g, aufgelegt. Die nach 5 min beobachtete prozentuale Verlängerung der Meßstrecke wurde als „Gesamtdehnung“ notiert. Danach wurde die Versuchslast entfernt und die folgende Verkürzung 5 weitere Minuten lang verfolgt. Die nach dieser Zeit noch verbleibende positive Längendifferenz galt als irreversible, „plastische“ Dehnung.

Aus statistischen Gründen wurden sämtliche Vergleichsmessungen an Gewebepaaren ausgeführt, die der gleichen Kartoffel entstammten. Aus Knollen der verwendeten Größe ließen sich in der Regel zehn Probstäbchen gewinnen. Diese wurden in räumlicher Aufeinanderfolge abwechselnd in destilliertes Wasser bzw. in IES-Lösung übertragen, so daß von jeder Kartoffel meistens fünf Probepaare aus unmittelbar benachbartem Gewebe zur Verfügung standen. Für jeden zu messenden Wert wurden in dieser Weise fünf bis sieben Kartoffeln verarbeitet.

Dieses Meßprinzip erforderte begreiflicherweise die Berücksichtigung sämtlicher Paare eines Satzes, wenn die statistische Korrelation erhalten bleiben sollte. Zur Darstellung des hier in erster Linie interessierenden Auxineffektes wurden demnach, für jeden Satz von Paaren getrennt, die Quotienten aus den Verlängerungsprozenten der IES- und der Wasserproben $Q = 100 \times \text{IES}/\text{H}_2\text{O}$ gebildet und aus fünf bis sieben Einzelquotienten der Mittelwert mit seinem mittleren Fehler Fm berechnet. Unmittelbarer Korrelationswert kommt somit nur diesen Zahlen zu. Deshalb lassen sich einzelne Verlängerungsprozente innerhalb zeitlich ausgedehnter Versuchsreihen dieser Arbeit nur bedingt miteinander vergleichen.

Die Ergebnisse

Serie 1: Die mechanischen Eigenschaften aeroben Gewebes

In unserer ersten Versuchsreihe wurde das Verhalten des Gewebes in einer 10^{-5} -Heteroauxinlösung (10 mg/l) und in destilliertem Wasser nach 3-, 12-, 24- und 48stündiger Expositionszeit verglichen.

Tabelle 1.

Aerobe Serie. 10 mg IES/l und dest. H_2O ; $T(\text{IES})$ und $T(\text{H}_2\text{O})$: Gesamtdehnung, $P(\text{IES})$ und $P(\text{H}_2\text{O})$: plastische Dehnung in IES bzw. in dest. H_2O . Q_T und Q_P : $100 \times T(\text{IES})/T(\text{H}_2\text{O})$ bzw. $100 \times P(\text{IES})/P(\text{H}_2\text{O})$. Mittelwerte aus je 25–39 Einzelmessungen bzw. Messungspaaren.

Expositionzeit	Datum	$T(\text{H}_2\text{O})$	$T(\text{IES})$	$P(\text{H}_2\text{O})$	$P(\text{IES})$	Q_T	Q_P
3 h	2.—18. 1.50	2,579	2,605	1,415	1,477	$101,07 \pm 3,93$	$105,31 \pm 5,46$
12 h	29.11.—21.12.49	2,687	2,886	1,506	1,697	$107,63 \pm 2,92$	$113,41 \pm 5,85$
24 h	8. 3.—5. 4.49	2,670	2,925	1,587	1,875	$109,72 \pm 1,34$	$119,15 \pm 3,35$
48 h	23. 3.—8. 4.49	2,600	2,750	1,595	1,682	$105,97 \pm 1,45$	$105,53 \pm 1,24$

In Abb. 2 a und b sind die Hauptergebnisse dieser Serie graphisch dargestellt. Schon die Einzelwerte T und P lassen deutlich erkennen, daß die IES-Lösung die gesamte wie die plastische Dehnbarkeit des Gewebes während der ganzen 48stündigen Versuchsperiode merklich erhöht hat. Beide IES-Kurven erreichen nach 24 Stunden ein deutliches Maximum. Bei noch längerer Exposition verfestigen sich die Zellwände wieder, doch bleibt auch nach 48 Stunden noch ein ansehnlicher Abstand vom Ausgangswert erhalten. — Auch die beiden H_2O -Kurven steigen zunächst an, die der Plastizität bis zum Ende des Versuchs, die der Gesamtdehnung jedoch nur bis zur 12. Stunde.

Noch eindrucksvoller kommt die Wuchsstoffwirkung in den beiden Q -Kurven zum Ausdruck. In ihnen zeigt sich, daß die Plastizität der Zellwände durch IES verhältnismäßig viel stärker erhöht wird als deren Gesamtdehnbarkeit. Wie schon in unserer vorigen Arbeit gezeigt wurde, erreichen beide Effekte zur selben Zeit, nach 24 Stunden, ihren Höchstwert. Die Gesamtdehnbarkeit im Heteroauxin übertrifft dann die der Wasser-

proben um 9,72%; für die entsprechenden Plastizitätswerte dagegen ist die Differenz fast doppelt so hoch, 19,15%. Berechnen wir diese Zahlen als die Multiplika ihrer mittleren Fehler, so zeigt sich, daß beide Effekte statistisch hinreichend gesichert sind: der Differenzwert von 100,000 beträgt für T 7,25 Fm, für P 5,72 Fm.

Auch im letzten Punkt unserer Meßreihe (48 h) überschreiten die Effekte noch das Vierfache des mittleren Fehlers. — Viel größer ist dagegen die Variabilität der Beobachtungen zu Beginn der Reaktion, vor allem beim ersten Meßpunkt nach 3 Stunden, bei dem die Differenz von 100,000 noch innerhalb des einfachen mittleren Fehlers bleibt. Dennoch verläuft die Verbindungscurve der Mittelwerte auch in ihrem Anfangsstrecke so harmonisch, daß es erlaubt erscheint, selbst den schwachen Effekt nach 3stündiger Exposition bereits als reell anzuerkennen.

Durch diese Erfahrungen werden die Ergebnisse unserer ersten Arbeit etwas modifiziert, da die seinerzeit gefundenen 6-h-Werte ($Q_T = 100,17 \pm 2,45$, $Q_P = 95,92 \pm 4,09$) auf ein merklich späteres Einsetzen der Reaktion schließen ließen.

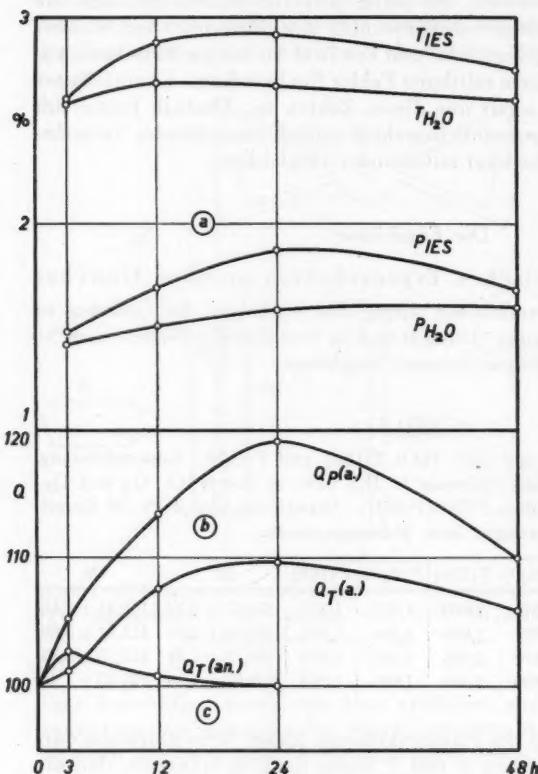


Abb. 2. (a) zeitlicher Verlauf der gesamten (T) und plastischen Dehnbarkeit (P) von aerobem Gewebe in 10^{-5} -IES-Lösung und in Wasser; (b) Kurven der zugeordneten Quotienten Q_T und Q_P ; (c) Verlauf der Q_T -Kurve unter aeroben Bedingungen (vgl. Tab. 1 u. 2).

denen 6-h-Werte ($Q_T = 100,17 \pm 2,45$, $Q_P = 95,92 \pm 4,09$) auf ein merklich späteres Einsetzen der Reaktion schließen ließen.

Serie 2: Das Verhalten anaeroben Gewebes

In dieser Meßreihe wurde an jahreszeitlich vergleichbarem Material untersucht, wie sich die Zufuhr von IES auf die mechanischen Eigenschaften

von anaerobem Gewebe auswirkt. Hierbei konnten nur Expositionszeiten bis zu 24 Stunden geprüft werden, da bei längerer Sistierung der O_2 -Atmung die Proben bereits deutliche Zeichen pathologischer Schädigung aufwiesen. — In der folgenden Tabelle sind diesmal nur die maßgebenden Q -Werte aufgenommen.

Tabelle 2.

Anaerobe Serie. IES-Konzentration 10 mg/l. Mittelwerte aus je 27—33 Messungspaaren.

Expositionszeit	3 h	12 h	24 h
Datum	8.—19. 1. 1950	30. 11.—22. 12. 1949	12.—26. 4. 1949
Q_T	$102,69 \pm 2,47$	$100,80 \pm 2,86$	$100,08 \pm 3,21$
Q_P	$102,23 \pm 3,47$	$97,76 \pm 4,73$	$100,77 \pm 4,21$

In auffälligem Gegensatz zu unserer vorigen Versuchsreihe lassen diesmal nur noch die 3-h-Werte eine schwache Dehnbarkeitssteigerung durch den Wuchsstoff erkennen. Zu den beiden späteren Zeitpunkten weichen die Quotienten kaum mehr von 100,00 ab (vgl. Abb. 2 c).

Die Deutung dieses Ergebnisses liegt nahe: Während der Anfangsphase des Versuchs enthält das Gewebe in seinen Interzellularen noch einen Restbestand von O_2 , der wenigstens die Erreichung der ersten Stufe des IES-Effekts, die Erhöhung der Gesamtdehnbarkeit, zuläßt. Wenn bei fortschreitender Asphyxie dieser O_2 -Vorrat aufgebraucht ist, erlischt das IES-Reaktionsvermögen der Zellwände vollkommen. Dies kommt auch darin zum Ausdruck, daß nunmehr zwischen den einander zugeordneten Q_T - und Q_P -Werten kein signifikanter Unterschied mehr besteht. Bei Asphyxie bleibt also nicht nur die Erhöhung der Gesamtdehnbarkeit durch den Wuchsstoff aus, sondern auch die beim aeroben Material so auffällige Zunahme der Plastizität auf Kosten der Elastizität.

Serie 3: Der Effekt einer höheren IES-Konzentration

Zum Abschluß dieses Teils der Analyse wurde schließlich noch der Effekt einer zehnmal höheren IES-Konzentration (100 mg/l) auf die Dehnbarkeit von aerobem und anaerobem Gewebe untersucht. Wie Vorversuche zeigten, wirkt diese Konzentration auf die aerobe Wasseraufnahme bereits umgekehrt wie die 10^{-5} -Lösung: Statt einer Förderung verursacht sie bei längerer Einwirkung eine deutliche Hemmung. Als Expositionszeit wurden 24 Stunden gewählt, da dann nach unseren bisherigen Erfahrungen die eindeutigsten Ergebnisse zu erwarten waren. Alle übrigen Bedingungen entsprachen denen in den beiden vorigen Serien.

Tabelle 3.

IES-Konzentration 100 mg/l. Expositionszeit 24 Stunden. a = aerob, an = anaerob. Alle übrigen Abkürzungen wie in Tab. 1. Mittelwerte aus je 30 Einzelmessungen bzw. Messungspaaren. — 21. Februar bis 31. März 1950.

$T(H_2O)$	$T(IES)$	$P(H_2O)$	$P(IES)$	Q_T	Q_P
a: 2,531	2,638	1,421	1,522	$104,49 \pm 2,39$	$107,44 \pm 2,75$
an: 2,931	3,475	1,716	2,331	$118,02 \pm 3,69$	$133,92 \pm 7,29$

Wir begegnen hier einer völlig neuen Situation. Wie aus den Q-Werten hervorgeht, kommt nunmehr der IES-Effekt beim aeroben Material verhältnismäßig schwach zur Entwicklung, während das anaerobe Gewebe unvergleichlich viel stärker reagiert. Die Verhältnisse liegen hier also gerade umgekehrt wie in der vorigen Reihe. Nun ist es äußerst unwahrscheinlich, daß die enorme Zunahme der Plastizität bei Asphyxie dem gleichen Mechanismus zuzuschreiben ist wie die viel schwächere, atmungsgebundene Duktilitätssteigerung in der verdünneteren IES-Stufe. Man wird daher an die Möglichkeit einer verhältnismäßig groben, direkten Wirkung der unphysiologisch hohen Wuchsstoffkonzentration auf das kolloidale Gefüge der Zellwände zu denken haben (Ruge 1937, 1942), vielleicht sogar an einen unspezifischen p_{H} -Effekt (Blank und Deuel 1943).

Zum Verständnis des so auffälligen Unterschieds im Verhalten des „an“- und des „a“-Materials sei daran erinnert, daß das normal atmende Gewebe den p_{H} -Wert einer ungepufferten sauren Kulturlösung relativ schnell und wirksam zu erhöhen vermag, ein Effekt, der bei Asphyxie viel schwächer in Erscheinung tritt (vgl. Lemmon 1936, Brauner et al. 1940, Reinders 1942). Das Entstehen einer lytropen Säurewirkung der konzentrierten IES-Lösung ist demnach bei anaerober Kultur viel wahrscheinlicher. Selbst dann dürfte allerdings noch die Mithilfe eines weiteren Faktors notwendig sein: die Speicherung von Heterauxin in der Wandstruktur und die damit verbundene Erniedrigung ihres p_{H} unter den Wert der umgebenden freien Lösung. Ruge (1937) glaubt, einen solchen Effekt tatsächlich nachgewiesen zu haben. Nur wenn sich diese Erfahrung bestätigen sollte, würde die lokale Entstehung eines so niedrigen p_{H} -Niveaus, wie es zur Verursachung einer Plastizitätssteigerung vom beobachteten Umfang Bedingung wäre, eine befriedigende Erklärung finden. Denn die Azidität der unveränderten 10^{-4} -IES-Lösung, $p_{\text{H}} 3,96$, reicht dazu nach unseren früheren Erfahrungen an Kartoffelgewebe noch keineswegs aus (vgl. Brauner et al. 1943, p. 59). Aber wie immer auch die im letzten Abschnitt geschilderten Effekte zu interpretieren sind, müssen sie als unphysiologisch gewertet werden, da sie nur unter semiletalen Bedingungen entstehen. Dennoch sind sie geeignet, einige Aufschlüsse über das Wesen der zweifellos physiologischen Reaktionen im verdünnteren Medium zu geben. Angesichts der Tatsache, daß dort eine Wirkung des Wuchsstoffs nur an aerobem Gewebe zu beobachten war, verliert nunmehr die Vorstellung einer direkten Beeinflussung der Zellwände sehr an Wahrscheinlichkeit. Dies gilt in erster Linie für die Beteiligung eines lytropen Faktors. Denn in der 10^{-5} -IES-Lösung erfolgt die Neutralisierung der ursprünglichen Azidität ($p_{\text{H}} 4,7$) durch das atmende Parenchym begreiflicherweise schneller und vollständiger als in der zehnmal konzentrierten Stufe. Die Duktilitätszunahme tritt also in einem Medium auf, dessen p_{H} sich von dem des destillierten H_2O der Parallelprobe nicht mehr unterscheidet ($p_{\text{H}} 7,1$).

Aber auch die Annahme einer unmittelbaren, spezifischen Beeinflussung der Zellwand durch den Wuchsstoff selbst (Ruge 1937, 1942; Lundegårdh 1942) läßt sich für die physiologische IES-Konzentration kaum aufrechterhal-

ten, bei denen der normale Ablauf der O_2 -Atmung Grundbedingung für die Entstehung des Effekts ist; man müßte denn postulieren, daß die Atmung auf dem Wege einer Ionenschiebung das elektrische Adsorptionspotential der Zellmembranen für das IES-Anion erhöht (vgl. Lundegårdh 1942, 1949). In Anbetracht der alkalisierenden Wirkung der O_2 -Atmung wäre zunächst allerdings gerade das Gegenteil zu erwarten, nämlich eine Erhöhung der Negativität der Wandsubstanz und damit eine Abnahme ihres Anionenbindungsvermögens.

Angesichts dieser Widersprüche erscheint die Vorstellung, daß unter physiologischen Bedingungen die hormonale Zellwanderweichung indirekter Natur ist, viel plausibler. Durch sein Eingreifen in das Enzymsystem des Atmungsstoffwechsels wird das Heterauxin wohl auch im Dauergewebe der Kartoffelknolle den gleichen Primärprozeß in Gang setzen, der bei wachsenden Zellen schließlich zur Streckung führt. Man mag dabei an eine Induktion oder Beschleunigung der Plamaströmung denken, die ihrerseits die Abtragung von Zellwandmaterial modifiziert und auf diesem Wege die Plastizität der Membranen erhöht (Thimann 1949). Nach Frey-Wyssling (1950) wäre es aber auch vorstellbar, daß der Wuchsstoff ein cytaseartiges Ferment aktiviert, das durch Lösung von Mikrofibrillen in der primären Zellwand deren Dehnbarkeit erhöht. Auch dieser zweite Mechanismus müßte jedoch in noch unbekannter Weise mit dem Atmungsstoffwechsel gekoppelt sein.

Schließlich sei in diesem Zusammenhang an ein früher beobachtetes Phänomen erinnert, für dessen Verständnis die jetzt aufgefundene Beziehung zwischen der Atmung und der auxinbedingten Zellwanderweichung den Schlüssel zu geben scheint. Wir hatten seinerzeit gefunden, daß die gesamte und die plastische Dehnbarkeit von Kartoffelgewebe unter aeroben Bedingungen auch in reinem Wasser merklich größer ist als unter anaeroben (Brauner et Brauner 1943). Wenn man bedenkt, daß im natürlichen Wuchsstoffsystem der Kartoffelknolle Indolesigsäure und Indolazetaldehyd die Hauptrolle zu spielen scheinen (Hemberg 1947, Moewus 1948), wird nunmehr erklärlich, wie dieser Effekt zustande kommen kann. Durch O_2 -Zufuhr wird einerseits die Oxydation des Aldehyds zur freien Säure begünstigt, und andererseits kann die gebildete IES im atmenden Gewebe auch ihre Wirkung entfalten. Es scheint also, daß die Reaktion, die bei künstlicher IES-Zufuhr so auffällig in Erscheinung tritt, auch schon unter natürlichen Bedingungen durch den zelleigenen Wuchsstoff ausgelöst wird.

II. Der Einfluß von IES auf die Wasseraufnahme und auf den Verlauf der Bestimmungskurven des Saugpotentials

Methodik

Zu den Versuchen dieses Abschnitts diente die gleiche Kartoffelsorte wie zu den Dehnungsmessungen. Alle Bestimmungen wurden wieder nach unserer in einigen früheren Arbeiten eingehend beschriebenen gravimetrischen Methode ausgeführt (vgl. Brauner et Hasman 1947, p. 214). Da es wieder darauf ankam, die Wirkung zweier alternativer Bedingungspaare, näm-

lich einerseits die Wirkung von destilliertem H_2O und von IES, andererseits die aerober und anaerober Exposition miteinander zu vergleichen, mußten die Versuchsserien aus statistischen Gründen alternierend ausgeführt werden. Strenge Vergleichbarkeit ist demnach wieder nur innerhalb solcher korrelativer Versuchspaares gewährleistet.

Für jedes einzelne Versuchspaar diente eine große Kartoffel, aus der 100 Gewebezylinderchen vom Normalformat 5 mm/8 mm Durchmesser gewonnen werden konnten. Das Material wurde zunächst 15 min lang in fließendem Leitungswasser gewaschen, sodann in mehrfach gewechseltem destilliertem H_2O gespült und schließlich zwischen Filterpapier abgetrocknet. Die so vorbereiteten Gewebeproben wurden nunmehr gleichmäßig in zwei Gruppen aufgeteilt und gewogen. Schließlich wurde die eine Partie in 150 cm^3 destilliertes H_2O eingebracht, die andere in 150 cm^3 IES-Lösung. Je nach dem Zweck des Versuchs wurden die beiden Gefäße kräftig durchlüftet oder aber luftfrei verschlossen. Während der ganzen Versuchsdauer befand sich das Material in einem Dunkelthermostaten bei $25,0^\circ\text{C}$.

Nach der festgesetzten Expositionszeit wurden beide Proben zur Bestimmung der Wasseraufnahme erneut gewogen und sodann zur Ermittlung des Saugpotentials (S.P.) auf zwei Konzentrationsreihen verteilt. Als Osmotikum diente Saccharose, als Lösungsmittel destilliertes H_2O bzw. Auxinlösungen von der vorher benutzten Konzentration. Nach einstündiger Expositionszeit wurde die prozentuale Gewichtsänderung der Proben in den einzelnen Konzentrationsstufen ermittelt und danach die Bestimmungskurve des Saugpotentials gezeichnet.

Für die Messung des zeitlichen Verlaufs der Wasseraufnahme in verschiedenen IES-Konzentrationen wurde das Material zu festgesetzten Zeitpunkten aus den Behältern entnommen, gewogen und sodann bis zur nächsten Bestimmung in die Lösungen zurückgebracht. Auf diese Weise waren sämtliche Punkte jeder Absorptionskurve an identischem Material ermittelt worden. Aus naheliegenden Gründen ließ sich diese Methode nur in aeroben Serien anwenden. — In allen Versuchen von mehr als eintägiger Dauer wurden die IES-Lösungen und das Wasser nach den ersten 24 Stunden gewechselt.

Der Einfluß der IES-Konzentration auf die aerobe Wasseraufnahme

Schon in unserer vorigen Arbeit (1949) wurden einige Kurven langfristiger Versuche mitgeteilt, die in Bestätigung Reinders' (1942) die allgemeine Förderung der Wasseraufnahme durch Heteroauxin deutlich zum Ausdruck bringen. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß dieser Effekt in 10^{-5} -Lösungen bereits nach 6 Stunden signifikant ist, weit früher also, als Reinders angibt. Wir hatten uns damals auf die Untersuchung der Wirkung mittlerer IES-Konzentrationen beschränkt, in denen das Phänomen am klarsten in Erscheinung tritt. Unsere Analyse soll daher zunächst durch die Einbeziehung einer hohen Konzentrationsstufe ergänzt werden, da auch hier vom Verhalten des Gewebes unter extremen Bedingungen weitere Aufschlüsse über den Mechanismus der Reaktion zu erwarten sind. In diesem Zusammen-

hang waren ferner auch Beobachtungen nach kürzeren Expositionszeiten erwünscht, um die ersten Phasen des Effekts mit erfassen zu können. Demnach wurde in den folgenden, untereinander vergleichbaren Serien der Verlauf der Wasseraufnahme in destilliertem H_2O und in drei Auxinstufen: 10^{-6} , 10^{-5} und 10^{-4} nach 3, 6, 24 und 48 Stunden registriert.

Tabelle 4.

Aerobe Wasseraufnahme in % des Ausgangsgewichtes und die entsprechenden Quotienten $Q = 100 \times IES/H_2O$ (Mittel der Einzelquotienten). Je fünf Einzelversuche mit insgesamt 250 g Gewebe. $T = 25,0^\circ C$. — 23. Januar bis 2. Februar 1950.

Expositionszeit	3 h	6 h	24 h	48 h
$H_2O \%$	15,87	19,14	26,09	30,50
$10^{-6} IES \%$	15,81	19,54	26,71	30,61
$10^{-5} IES \%$	16,42	20,35	27,65	32,78
$10^{-4} IES \%$	17,30	20,02	23,42	24,11
$10^{-6} IES Q$	$100,28 \pm 4,17$	$102,75 \pm 4,66$	$102,68 \pm 3,45$	$100,42 \pm 5,31$
$10^{-5} IES Q$	$104,71 \pm 2,91$	$107,42 \pm 3,14$	$106,54 \pm 1,18$	$107,69 \pm 1,76$
$10^{-4} IES Q$	$110,28 \pm 2,78$	$106,12 \pm 3,41$	$90,24 \pm 1,16$	$79,14 \pm 1,43$

Die Q-Werte dieser Serie, die das Gesamtergebnis am übersichtlichsten zum Ausdruck bringen, sind in Abb. 3 graphisch dargestellt. Das Grundphänomen der Reindersschen Reaktion ist bei den beiden niederen Konzentrationen wieder deutlich zu erkennen. Gegenüber unseren früheren Versuchen (Brauner et Hasman 1949) besteht nur der Unterschied, daß beim neuen Material die 10^{-6} -IES-Stufe von Anfang an schwächer wirkt als die nächst höhere Konzentration und daß ihr Effekt weniger lang anhält. Neu ist die Feststellung, daß in der 10^{-5} -IES-Lösung die Reaktion bereits nach 3 Stunden sichtbar wird und nicht erst nach 2 Tagen, wie Reinders angibt (l. c., p. 77, 83). Diese Tatsache ist von einiger Bedeutung für die Beurteilung der primären Ursache der Absorptionssteigerung, ein Punkt, auf den wir im folgenden Abschnitt noch einmal zurückkommen werden.

Auffällig anders reagiert das Gewebe in unserer höchsten, der 10^{-4} -IES-Stufe. Hier wird die Wasseraufnahme gerade während ihrer Anfangsphase stark gesteigert. Nach etwa 11 Stunden ist jedoch der „Wasserwert“ schon wieder erreicht, und im weiteren Verlauf des Versuchs steigt dann die Absorptionskurve kaum mehr an. Dieses gegensätzliche Verhalten kommt noch deutlicher in den entsprechenden Q-Werten zum Ausdruck. In der 10^{-6} -Stufe steigt die Quotientenkurve bis zur sechsten Stunde flach an, doch nähert sie sich nach dem ersten Tage wieder langsam dem Wert 100. Die 10^{-5} -Kurve verläuft zunächst viel steiler und das nach 6 Stunden erreichte Niveau wird dann bis zum Versuchsende annähernd unverändert beibehalten. Aber trotz dieser quantitativen Unterschiede liegt den beiden Effekten doch das gleiche Reaktionsprinzip zugrunde. — Einer ganz anderen Situation begegnen wir nun in der höchsten Konzentrationsstufe. Zwar beginnt der Effekt auch hier mit einer Steigerung der Wasseraufnahme; diese Anfangsphase setzt sogar frühzeitiger und viel kräftiger ein als in den nie-

dereren Konzentrationen. Aber schon nach den ersten 3 Stunden macht sich im System ein Gegenfaktor bemerkbar, der die Wasseraufnahme in zunehmendem Maße hemmt: die Q-Werte sinken allmählich tief unter 100 ab. — Reinders, die die ersten Phasen der Reaktion nicht studiert hat,

gibt an, daß Kartoffelgewebe in 10^{-4} -IES-Lösungen bereits merklich geschädigt wird. Der Verlauf unserer Kurven läßt nun mehr einige über die Natur dieser Schädigung vermuten. Da nach früheren Erfahrungen die anfängliche Förderung der Wasseraufnahme in 10^{-5} -Lösungen in erster Linie durch eine Steigerung der Wasserpermeabilität verursacht wird, liegt die Annahme nahe, daß auch die höhere Konzentration zuerst über den gleichen Mechanismus wirkt. Demnach wäre die Reaktion anfangs also nur quantitativ verschieden. Bei längerer Exposition scheint jedoch die Auf-

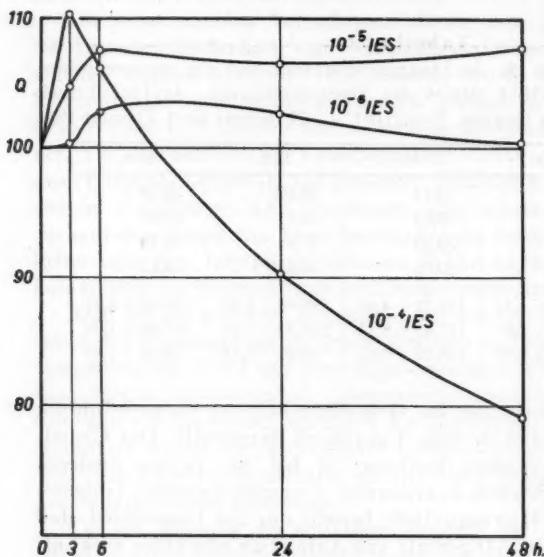


Abb. 3. Einfluß der IES-Konzentration auf die aerobe Wasseraufnahme. Ordinate: die Quotienten $100 \times \text{IES}/\text{H}_2\text{O}$; Abszisse: Versuchsdauer.

lockung der Plasmahaut so weit zu gehen, daß schließlich auch ihre Selektivität beeinträchtigt wird. Die unmittelbare Folge davon ist ein Absinken und schließlich ein Negativwerden des Saugpotentials, ein Effekt, der bei längerer Fortsetzung des Versuchs als ein zunehmender Gewichtsverlust des Gewebes in Erscheinung tritt. Dieser Konzentrationseffekt der Auxinreaktion erinnert demnach an die Wirkung der Lichtintensität bei der phototropischen Reaktion der Leguminosengelenke, in denen schwache Reize ebenfalls nur die Wasserpermeabilität erhöhen, starke dagegen zu einem Zusammenbruch der Semipermeabilität führen (vgl. Brauner et al. 1947).

In der folgenden Tabelle ist schließlich dargestellt, wie hoch die statistische Wahrscheinlichkeit bewertet werden kann, daß die Quotienten tatsächlich über bzw. unter dem Wert 100 liegen, daß also die beobachteten Auxineffekte reell sind. Dazu wurden die ermittelten Abweichungen D der Quotienten von 100 als Multipla ihres mittleren Fehlers F_m berechnet und die prozentuale Identitätschance nach dem Gaußschen Fehlergesetz festgestellt.

Aus dieser Berechnung geht hervor, daß die Variabilität der Ergebnisse in der 10^{-6} -Serie trotz gleicher Methode und identischen Materials viel größer ist als in den übrigen beiden Reihen. Diese Tatsache läßt erkennen, daß unsere niedrige Konzentrationsstufe die Empfindlichkeitsschwelle des

Tabelle 4a.

Abweichungen „D“ von 100 als Multipla von Fm und prozentuale Identitätschance „I“.

	Expositionszeit	3 h	6 h	24 h	48 h
10^{-6} IES	D: Fm	0,067	0,590	0,777	0,079
	I	47	28	22	47
10^{-5} IES	D: Fm	1,62	2,36	5,79	4,37
	I	5,3	0,9	0,0	0,0
10^{-4} IES	D: Fm	3,68	1,80	8,41	14,59
	I	0,01	3,6	0,0	0,0

Gewebes nur wenig überschreitet. In der 10^{-5} -Serie beträgt die Identitätschance des 3-h-Wertes noch über 5%, die Signifikanz der späteren Meßpunkte ist dagegen hinreichend gesichert. Erstaunlich gering sind die Fehler in der 10^{-4} -Reihe, trotz der zunehmenden Schädigung des Gewebes. Nur der 6-h-Punkt bildet eine Ausnahme, vermutlich wegen der in dieser Phase einsetzenden Beeinträchtigung der Selektivität.

Die Bestimmungskurven des Saugpotentials von H_2O - und von IES-Material nach aerober und nach anaerober Wasseraufnahme

Wie schon in unserer vorigen Mitteilung (1949) eingehend dargelegt worden ist, lassen sich aus dem Verlauf der Bestimmungskurven des Saugpotentials auch Aufschlüsse über die Wasserpermeabilität des Gewebes und über die Dehnbarkeit seiner Zellwände gewinnen. In den folgenden Versuchen wird von diesem Prinzip Gebrauch gemacht werden, um die Wirkung des Heterauxins auf diese Eigenschaften in ihrer Abhängigkeit von der Sauerstoffatmung zu studieren. Da hier bei kürzeren Expositionszeiten anaerobe Bedingungen nicht mit Sicherheit gewährleistet werden konnten, beschränken wir uns auf die Untersuchung der Effekte nach 12- und nach 24stündiger Vorbehandlung in den zu vergleichenden Medien. Das Heterauxin wurde stets in 10^{-5} -Lösung dargeboten, da sich diese Konzentration in allen unseren bisherigen Versuchen als optimal erwiesen hatte.

In Abb. 4 und 5 sind die Bestimmungskurven der Versuchspaare graphisch dargestellt. Wir vergleichen zunächst die Ergebnisse der 12-h-Serie. Hier verlaufen die beiden „a“-Kurven noch fast ebenso linear wie im 6-h-Versuch unserer vorigen Arbeit (1949, p. 64). Wiederum ist in der Nullstufe die Gewichtszunahme und in der höheren Zuckerkonzentration die Gewichtsabnahme größer als in den Wasserkontrollen. Dagegen zeigen die Schnittpunkte der beiden Kurven mit der Null-Abszisse, daß das Saugpotential des IES-behandelten Gewebes das der Wasserproben bereits

merklich (um 24,4%) übertrifft (vgl. Abb. 4 a). Aus diesen Beobachtungen sind die folgenden Schlüsse abzuleiten:

Tab. 5. Bestimmungsgrößen des Saugpotentials nach aerober (a) und anaerober (an) Wasseraufnahme.

Material vor der Messung 12 h bzw. 24 h in dest. H₂O- oder in 10 mg/l-IES-Lösung. Expositionszeit in den Konzentrationsreihen: 1 h. G = %-Gewichtsänderung der Proben, W = %-Wasseraufnahme während der Vorbehandlung, Q = 100 × W(IES/W(H₂O)); S.P. = Saugpotential des Gewebes, bezogen auf den osmotischen Wert der Saccharose-Testlösung bei ihrem Gefrierpunkt (atm. Δ).

I. 12-h-Versuche (10 Einzelmessungen; 10. bis 24. November 1949).

atm. Δ	0,00	1,24	2,47	W	Q	S. P.
„a“ H ₂ O: G	+ 0,219	- 0,417	- 1,088	17,75	106,82	0,45 atm. Δ
„a“ IES: G	+ 0,402	- 0,472	- 1,250	19,23	± 1,88	0,56 atm. Δ
„an“ H ₂ O: G	+ 0,552	- 0,271	- 0,975	16,11	100,29	0,79 atm. Δ
„an“ IES: G	+ 0,577	- 0,253	- 0,969	16,12	± 1,65	0,82 atm. Δ

II. 24-h-Versuche (14 Einzelmessungen; 4. Januar bis 4. Februar und 14. April bis 10. Mai 1949).

atm. Δ	0,00	1,24	2,47	W	Q	S. P.
„a“ H ₂ O: G	+ 0,057	- 0,181	- 0,535	24,70	107,79	0,395 atm. Δ
„a“ IES: G	+ 0,271	- 0,268	- 1,106	26,62	± 1,28	0,665 atm. Δ
„an“ H ₂ O: G	- 1,160	- 0,915	- 1,146	21,43	100,54	—
„an“ IES: G	- 0,631	- 0,848	- 1,074	21,52	± 1,62	—

a) Der lineare Verlauf der beiden Kurven läßt erkennen, daß die Volumänderungen hier noch innerhalb der ganzen Konzentrationsreihe den wirk samen Drucken proportional sind, daß also die Wandspannung dem Hookeschen Gesetz noch weitgehend folgt.

b) Die Tatsache, daß das Saugpotential des Auxinmaterials trotz an dauernd stärkerer Wasseraufnahme nunmehr über dem der Wasserkontrol len liegt, zeigt das Wirken eines kompensierenden Faktors an. Nach der konventionellen Gleichung $S.P. = O - W$ könnte dieser Faktor im Prinzip ebenso eine auxin-induzierte Erhöhung des osmotischen Wertes „O“ sein wie eine Verminderung der Wandspannung W. Da aber, wie noch gezeigt werden wird, der kryoskopisch bestimmte osmotische Wert des Zellsafts im Auxinmaterial tatsächlich etwas unter dem der Kontrollen liegt, könnte O nur durch eine auxinbedingte Erhöhung seiner „metaosmotischen“ Komponente beeinflußt worden sein. Für einen solchen Effekt liegen bisher allerdings noch keine Indizien vor. Dagegen ist die Erniedrigung der Wand spannung durch unsere Dehnungsversuche bereits erwiesen.

- c) Der relativ größere Gewichtsverlust der Auxinprobe in beiden Zuckerstufen beweist, wie wir glauben, eindeutig eine Erhöhung der Wasserpermeabilität durch den Wuchsstoff. Vermutlich ist auch die stärkere Gewichtszunahme des Auxinmaterials in der Nullstufe dem gleichen Faktor zuzuschreiben, doch ist hier eine Mitbeteiligung der gleichsinnig wirkenden Saugkraftdifferenz nicht auszuschließen.

Das Ergebnis der anaeroben Serie erscheint wieder besonders aufschlußreich: Es zeigt sich hier zum zweitenmal, daß der Effekt der IES bei Sistierung der Sauerstoffaufnahme weitgehend unterdrückt wird. Die IES-Kurve deckt sich in ihrem gesamten Verlauf fast völlig mit der Wasserkontrolle (Abb. 4 b). Ein Unterschied in der Wasserpermeabilität tritt nicht mehr in Erscheinung. Nur im Saugpotential ist noch eine geringe Differenz (3,8%) zugunsten des IES-Materials erkennbar.

Verglichen mit den entsprechenden „a“-Werten liegen beide „an“-Saugpotentiale beträchtlich höher, ein Unterschied, für den die geringere Wasser- aufnahme des anaero- ben Gewebes nur teilweise verantwortlich sein kann. Da in der Versuchsgruppe jedoch aus technischen Gründen nur für die jeweiligen H_2O - und IES-Paare streng identisches Material verwendet werden konnte, sind aus dieser Niveaudifferenz keine zu weitgehenden Schlüssefolgerungen abzuleiten. Es sei in diesem Zusammenhang daran erinnert, daß wir in einer früheren Studie an statistisch identischem Material

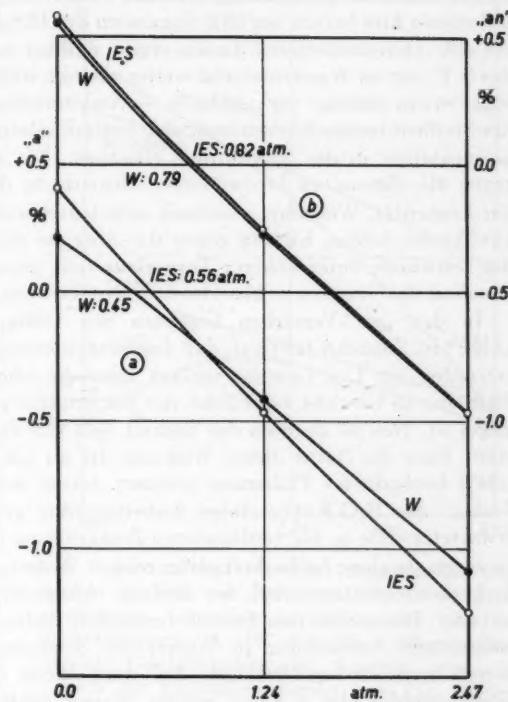


Abb. 4. Bestimmungskurven des Saugpotentials von aerobem (a) und von anaerobem Gewebe (b) nach 12ständigem Aufenthalt in Wasser (W) bzw. in 10^{-5} -IES-Lösung. ● = W, ○ = IES. Ordinate: prozentuale Gewichtsänderungen, Abszisse: atm. Δ -Werte der Konzentrationsreihe (vgl. Tab. 5/I).

eine solche Überhöhung des „an“-S. P. nicht beobachteten konnten (vgl. Brauner et al. 1940).

Beträchtlich komplexer ist die Situation in den 24-h-Versuchen. Zur Erleichterung des Vergleichs sei hier zunächst die schon in unserer vorigen Mitteilung teilweise publizierte „a“-Reihe vollständig reproduziert (Abb. 5a). Der Verlauf der IES- und der H_2O -Kurve bringt die Grundeffekte des 12-h-Versuchs in gesteigertem Ausmaß zum Ausdruck: Die Saugpotentiale differieren hier bereits um 68% zugunsten des IES-Materials, eine Situation, die sich interessanterweise daraus ergibt, daß bei zunehmender Absättigung das S. P. nur im Wassermaterial weiter absinkt, während es im IES-Material sogar etwas ansteigt (vgl. Abb. 5). — Andererseits läßt der Unterschied in der Steilheit beider Kurven auch eine weitere relative Zunahme der Wasserpemeabilität in der Auxinprobe erkennen. Ein neues Phänomen ist dagegen die diesmal zu beobachtende Abweichung des Kurvenverlaufes von der Linearität. Wie schon seinerzeit angedeutet worden ist, bringt die Konkavität der beiden Kurven gegen die Abszisse eine graduelle Versteifung der Zellwände unter höherer Turgorbelastung zum Ausdruck. Die Volumenzunahme des Gewebes ist hier also dem Druckanstieg nicht mehr proportional.

In den „an“-Versuchen begegnen wir völlig anderen Verhältnissen (Abb. 5b). Zunächst fällt auf, daß das Saugpotential beider Proben negativ geworden ist: Das Gewebe verliert nunmehr schon in der Nullstufe der Meßreihe an Gewicht, ein Effekt, der bei längerer anaeroben Exposition die Regel ist. Neu ist dagegen der Befund, daß IES diesen Verlust stark reduziert. Über die Natur dieser Wirkung, die an ein von Commoner et al. (1943) beobachtetes Phänomen erinnert, lassen sich aus dem eigenartigen Verlauf der H_2O -Kurve einige Anhaltspunkte gewinnen. Hier wird unerwarteterweise in der verdünnteren Zuckerlösung (1,24 atm.) eine geringere Gewichtsabnahme beobachtet als in reinem Wasser, und erst in der höheren Zuckerkonzentration wird der niedrige Ausgangswert wieder annähernd erreicht. Diese Situation kommt vermutlich dadurch zustande, daß länger andauernde Anaerobiose in Wasser die Semipermeabilität des Gewebes bereits merklich beeinträchtigt. Auf diese Weise dürfte sich zunächst das Negativwerden des S. P. in reinem Wasser erklären. In der niedersten Zuckerkonzentration steigt die Kurve wieder an, weil hier die Plasmagrenzflächen offenbar wieder soweit verdichtet werden, daß das System einen Teil seiner osmotischen Arbeitsfähigkeit zurückgewinnt. Die neuere Gewichtsabnahme in der höchsten Zuckerstufe kommt schließlich durch osmotischen Wasserverlust an die saugfähigeren Außenlösungen zustande.

Bei Gegenwart von Heterauxin erscheint der Verlauf des Versuches in zwei wichtigen Punkten verändert: Erstens wird der Gewichtsverlust in der Wasserstufe stark abgeschwächt, und zweitens sinkt die Kurve von diesem Ausgangspunkt fast linear gegen die höheren Zuckerkonzentrationen hin ab. Dies läßt darauf schließen, daß hier die vorerwähnte Beeinträchtigung der Semipermeabilität von Anfang an stark abgeschwächt worden sein muß. Heterauxin scheint hier also die Plasmahaut ähnlich abzudichten wie Zucker. Dabei kommt es vermutlich sogar zu einer leichten Erniedrigung

der Wasserpermeabilität, denn die Auxinkurve verläuft von der ersten Zuckerstufe an in einem Abstand parallel über der Wasserkurve. Eine derartige Inversion der Auxinwirkung ist nach Koningberger (1947) und Veldstra (1949) keineswegs unwahrscheinlich, wenn man bedenkt, daß längere Anaerobiose entscheidende Veränderungen im Substrat der Reaktion hervorrufen muß. Von wesentlichem Einfluß ist hier vor allem das labile Verhältnis zwischen der lipophilen und der hydrophilen Phase in der Plasmahaut (Bungenberg de Jong et al. 1958) und die p_H -empfindliche Größe der elektrostatischen Anziehungs Kräfte zwischen den ampholytischen Bauelementen des Systems. Für eine Mitbeteiligung dieses letzteren Faktors spricht schon die Tatsache, daß Anaerobiose den p_H des Mediums nicht unwe sentlich verringert. Im Anschluß an die Anschauungen der erwähnten Autoren wäre also daran zu denken, daß das als „Sensibilisator“ der Plasmamembran wirkende Heteroauxin-Molekül im anaeroben Gewebe nur seine primäre, verdichtende Wirkung entfaltet. Daß das Saugpotential hier trotz der Restitution der Semipermeabilität noch negativ erscheint, liegt offenbar daran, daß bei Anaerobiose die „metaosmotische“ Komponente der Wasseraufnahme allmählich ausgeschaltet worden ist. Dieser Potentialverlust muß dann schließlich zu einem Absinken des osmotischen Gesamtwertes unter die Größe der Wandspannung führen.

Anders als in den 12stündigen Versuchen tritt also bei länger andauernder Anaerobiose wieder ein deutlicher Effekt des Heteroauxins in Erscheinung. Allerdings dürfte er, wie eben gezeigt wurde, von ganz anderer Natur sein als bei Aerobiose und er bleibt offenbar auf die Plasmahaut beschränkt. Daß hier die Zellwandelastizität nicht mehr beeinflußt wird, ist ja schon aus unseren im ersten Abschnitt geschilderten Dehnungsversuchen hervorgegangen (vgl. Tab. 2).

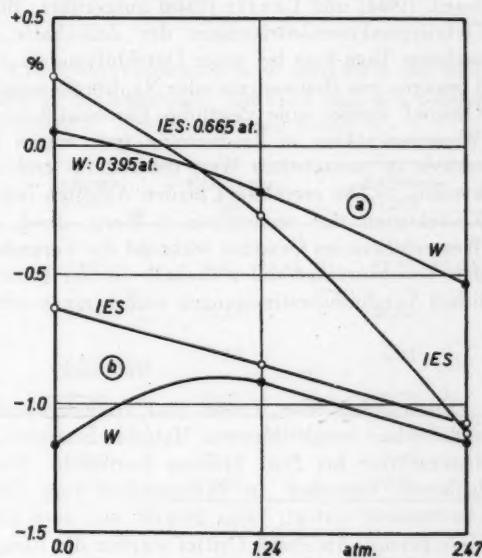


Abb. 5. Bestimmungskurven des Saugpotentials von aeroben (a) und von anaeroben Gewebe (b) nach 24ständigem Aufenthalt in Wasser (W) bzw. in 10^{-5} -IES-Lösung. ● = W, ○ = IES. Ordinate: prozentuale Gewichtsänderungen, Abszisse: atm. △-Werte der Konzentrationsreihe (vgl. Tab. 5/II).

III. Der osmotische Wert des Zellsafts von IES- und von wasserbehandeltem Gewebe

Im folgenden sei schließlich über einige kryoskopische Messungen berichtet, in denen das Problem der anatotonischen Wirkung des Heterauxins erneut aufgegriffen wird. Die ersten Versuche dieser Art haben van Overbeek (1944) und Levitt (1948) ausgeführt. Beide Autoren verglichen die Gefrierpunktsniedrigungen des Zellinhalts von Kartoffelgewebe, das mehrere Tage lang bei guter Durchlüftung in destilliertem Wasser bzw. in Lösungen von Heterauxin oder Naphthylessigsäure belassen worden waren. Obwohl wieder eine deutliche Förderwirkung der Wuchsstoffe auf die Wasseraufnahme in Erscheinung trat, waren keine signifikanten Unterschiede im osmotischen Wert des Auxin- und des Wassermaterials zu erkennen. — Die erwähnten beiden Arbeiten lassen jedoch die notwendigen Korrekturen der ermittelten Δ -Werte durch eine Berücksichtigung der Wasserbilanz des Gewebes während des Versuchs vermissen. In den folgenden Versuchsreihen sollen deshalb die zur Entscheidung der Frage wesentlichen Vergleichsbestimmungen nachgetragen werden.

Methodik

Osmotischer Wert, Frisch- und Trockengewicht des Gewebes wurden unmittelbar vergleichbarem Material bestimmt. Für jede Einzelmessung dienten vier bis fünf größere Kartoffeln. Sie wurden wie in unseren früheren Versuchen in Zylinderchen vom Normalformat 5 mm \times 8 mm Durchmesser zerlegt, 5 min gespült und nach gründlichem Mischen in drei Teile geteilt. An einem Drittel wurden die Ausgangswerte, an den übrigen beiden die Endwerte nach 48stündiger aerober Wasseraufnahme aus destilliertem H_2O bzw. 10^{-5} IES ermittelt. Die Trockengewichtsbestimmungen wurden an je ~ 50 g ($= \sim 170$ Zylinder) Ausgangsmaterial vorgenommen, für die Messungen des osmotischen Wertes dienten je 25 cm³ Preßsaft.

Die Trocknung des Gewebes erfolgte in einem elektrischen Thermo- staten bei 103° C. Die Erreichung der Gewichtskonstanz beanspruchte bei der starken Hygroskopizität des Materials mindestens 24 Stunden. — Zur Gewinnung des Preßsaftes war die bekannte Waltersche Methode (1931) bei unserem Material leider nicht zu verwenden, da Erhitzung hier zur Entstehung von Stärkeleister führt, der fast das gesamte vorhandene Wasser bindet. Gute Resultate erzielten wir dagegen, wenn das Gewebe in der Gefrierkammer eines elektrischen Kühlschrances steinhart gefroren und sodann im Wasserbad bei 30° C schnell aufgetaut wurde. Dabei sterben die Zellen sofort ab und geben den größten Teil ihres Saftes von selbst ab. Der Rest wurde ausgepreßt und mit der ersten Fraktion vereinigt. — Die Bestimmung des osmotischen Wertes wurde am frischgewonnenen Zellsaft mittels eines Beckmannschen Kryoskops ausgeführt.

Das Hauptergebnis dieser Meßreihe bestätigt im wesentlichen die Befunde Overbeeks und Levitts (l. c.): Der osmotische Wert des Zellsafts sinkt in beiden Versuchsmethoden annähernd proportional mit der Verdün-

nung durch das aufgenommene Wasser. Die geringfügige positive Differenz der gemessenen Konzentrationen erreicht in keinem Fall den einfachen mittleren Fehler der kryoskopischen Bestimmung. Das bedeutet aber, daß die Absolutmenge der osmotischen Substanz während der Wasserabsorption praktisch unverändert geblieben ist. Dieser Befund gilt vor allem auch für das IES-Material: selbst bei Berücksichtigung aller erfassbaren Volum-

Tab. 6. Mittel aus je fünf Einzelbestimmungen. 6. April bis 8. Mai 1950.
Anfangswerte nach 5 min Spülen in Leitungswasser. Endwerte nach 48 h aerobe
Wasseraufnahme bei 25° C. IES-Konzentration 10 mg/l.

	Anfangs-werte	Endwerte H_2O	Endwerte IES
Wasseraufnahme in % des Ausgangsfrischgewichts . . .	00,00	29,01 ± 1,45	31,75 ± 1,08
Trockengewicht in % des Ausgangsfrischgewichts . . .	22,97	22,16	22,08
Trockengewichtsverlust in % des Ausgangstrockengewichts .	—	3,53	4,09
Wassergehalt in % des Ausgangsfrischgewichts	77,03	106,85	109,72
Osmotischer Wert in Atmosphären	6,85	5,14	4,92
<i>Fm:</i>	± 0,29	± 0,31	± 0,21
a) Veränderung der Zellsaftkonzentration, berechnet aus der Wasseraufnahme . . .	100,00	72,09	70,21
b) Relative osmotische Werte, kryoskopisch bestimmt . .	100,00	75,04	71,82
100 × b/a	—	104,09	102,29

änderungen ergeben sich keine Anhaltspunkte für das Auftreten von Anatomose in der Heteroauxinlösung.

Interessant ist ferner das Ergebnis der Trockengewichtsbestimmungen. Während der 48stündigen Absorptionsperiode verliert das Gewebe in Wasser 3,53%, in der IES-Lösung 4,09% seiner ursprünglichen Trockensubstanz. Dieser Verlust könnte von vornherein zwei verschiedenen Ursachen zugeschrieben werden: einem oxydativen Abbau von organischer Substanz zu CO_2 und H_2O oder einer Exosmose diffusibler Bestandteile des Zellinhalts. In einer früheren Arbeit (Brauner et al. 1940) konnte jedoch an Kartoffelgewebe gezeigt werden, daß unter aeroben Bedingungen der Exosmoseverlust an löslichen Zuckern selbst während 72 Stunden nur etwa 5,5% der mittleren Innenkonzentration ausmacht. Daraus folgt, wie schon Reinders (1942) vermutet hatte, daß der weitaus größte Anteil des Substanzverlustes der Atmung zuzuschreiben ist. Wenn nun in unserem letzten Versuch dieser Verlust beim IES-Material etwas größer gefunden wurde, so läßt dies auf

eine leichte Stimulierung der aeroben Atmung durch den Wuchsstoff schließen. Auch Reinders konnte bei aerober Exposition entsprechende Differenzen im Trockengewichtsverlust von Wasser- und Auxinmaterial beobachten, die nach 8 Tagen bereits 56,3% des Wasserwertes ausmachten. In unserem 2tägigen Versuch betrug der Unterschied allerdings nur 15,9%, was, von Materialunterschieden abgesehen, dadurch zu erklären ist, daß eine Stimulation der Atmung durch den Wuchsstoff erst nach einer bestimmten Latenzperiode messbar in Erscheinung tritt. Die Vermutung Reinders', daß während dieser Phase die Hydrolyse der Kohlehydratreserven durch Heterauxin beschleunigt wird (l. c., p. 132), hat sich allerdings, wie oben gezeigt wurde, nicht bestätigen lassen. Und damit wird auch Reinders' Hypothese hinfällig, daß die Förderung der Wasseraufnahme während der ersten Tage wenigstens zum Teil auf eine auxinbedingte Anatomose zurückzuführen sei.

Levitt (1948) untersuchte ebenfalls die Veränderungen des Trockengewichts während der Wasseraufnahme aus destilliertem H_2O und aus 10^{-5} -IES-Lösungen. Im Gegensatz zu unserem eigenen Befund fand er nach zwei Tagen den Trockengewichtsverlust beim Auxinmaterial merklich geringer als bei den Wasserkontrollen, und er schließt daraus, daß gerade während der Periode der Förderung der Wasseraufnahme das Auxin keine zusätzliche Atmungsenergie für eine „aktive“ Absorption des Wassers freimachen kann. Nun fällt bei einem Vergleich der Levittschen Protokolle aber auf, daß gerade in den 2tägigen Versuchen (l. c., Tab. IV und V) die Förderung der Wasseraufnahme durch den Wuchsstoff erstaunlich gering war: + 1,3%, - 6,1%, resp. + 2,6%, während in unserer letzten Versuchsgruppe die Differenz immerhin 9,4% betrug. Es fragt sich daher, ob das Levittsche Material so weitgehende Schlußfolgerungen zuläßt. Dagegen stimmen wir darin überein, daß der Atmungsmechanismus während der Versuchsperiode nicht dazu ausgenutzt wird, den osmotischen Wert des Zellsafts zu erhöhen.

Schlußbemerkungen

In seiner Analyse des Streckungswachstums kommt Pohl (1948) zum Ergebnis, daß die auffällig plötzlich einsetzende Förderung der Längenzunahme wuchsstofffreier Koleoptilen bei Zufuhr von IES nur durch eine Erhöhung der Wasserpermeabilität induziert wird. Eine Plastizitätszunahme der Zellwände könnte das Saugpotential des Gewebes praktisch nicht weiter erhöhen, da in wachsenden Zellen der Wanddruck „im Verhältnis zur Saugkraft“ zu klein sei.

Nun haben aber unsere Versuche außer Zweifel gestellt, daß IES in aerobem Gewebe die Wasserpermeabilität und die Duktilität der Zellwände erhöht. Da, wie auch Bogen (1951, p. 218) kürzlich hervorgehoben hat, eine Permeabilitätserhöhung nur die Geschwindigkeit der Absättigung, nicht aber das endgültige Gleichgewicht beeinflussen kann, ist zu überlegen, ob das Pohlsche Argument auch für unser Objekt zutreffend sein kann, dessen Turgeszenz vor allem bei längeren Expositionszeiten recht erhebliche Werte

erreicht. Unsere Messungen des Saugpotentials und des osmotischen Wertes liefern die notwendigen Daten für die folgende Überschlagsrechnung:

($S.P.$, O und W in atm. Δ ; W berechnet als $O - S.P.$; O berechnet unter Annahme der Konstanz der osmotischen Substanz.)

Expositionszeit	12 h		24 h	
	H ₂ O	10 ⁻⁵ IES	H ₂ O	10 ⁻⁵ IES
$S.P.$	0,45	0,56	0,40	0,67
% S. P.-Zunahme in IES	—	+ 24,4	—	+ 68,4
O	5,57	5,48	5,19	5,09
W	5,12	4,92	4,79	4,42
% W-Abnahme in IES .	—	- 3,9	—	- 7,7

Wir sehen zunächst, daß die nach der konventionellen Gleichung $S.P. = O - W$ für die statischen Bedingungen beim Kompensationspunkt berechneten Wanddrucke sich bei unserem Objekt der Größenordnung der zugeordneten O -Werte nähern. Ferner ergibt sich: Im 12-h-Versuch ist der Wanddruck durch IES um 3,9%, im 24-h-Versuch um 7,7% erniedrigt worden. Dem steht im ersten Fall ein S. P.-Zuwachs von 24,4%, im zweiten von 68,4% gegenüber. Im turgeszenten Gewebe hat also eine verhältnismäßig geringe Erhöhung der Wanddehnbarkeit schon auf Grund der Gleichung eine relativ viel stärkere Zunahme des Saugpotentials zur Folge. In unserem Fall liegen die Verhältnisse deshalb ganz anders als in wachsenden Zellen mit fast ungespannten Wänden.

Ein weiteres positives Argument für die Beteiligung der Zellwanderweidung an der auxinbedingten Erhöhung des Saugpotentials ergibt sich schließlich aus der Tatsache, daß der direkt ermittelte relative Dehnbarkeitsanstieg in der IES-Lösung dem Quotienten aus den errechneten Wanddrucken $W(H_2O) / W(IES)$ der Größenordnung nach entspricht:

	12 h	24 h
$100 \times T(IES) / T(H_2O)$	107,63	109,72 (vgl. Tab. 1)
$100 \times W(H_2O) / W(IES)$	104,06	108,37

Durch diese Feststellung wird andererseits die Existenz einer auxinbedingten metaosmotischen Komponente des osmotischen Potentials ernsthaft in Frage gestellt. Denn aus dem obigen Zahlenvergleich geht ja hervor, daß die in den Dehnungsversuchen ermittelte Erhöhung der Wanddehnbarkeit völlig ausreicht, um ohne jedes Zusatzpotential für die beobachtete Steigerung der Saugkraft in der IES-Lösung aufzukommen. Die Notwendigkeit der O_2 -Atmung für das Zustandekommen des Auxineffekts, die zunächst den Gedanken der Entstehung eines anomalen Zusatzpotentials nahegelegt hatte, scheint sich also auf die Ermöglichung der Zellwandentspannung und der Permeabilitätsreaktion zu beschränken. — Es sei aber unterstrichen, daß

diese Schlussfolgerung nichts über die Mitbeteiligung eines auxin unabhängigen metaosmotischen Potentials an den gemessenen Saugkräften präjudiziert.

Erst während der Niederschrift dieses Manuskripts erhielten wir Kenntnis von einer neuen Arbeit v. Guttenbergs (Guttenberg et Beythien 1951), in der der Autor seine vorige Studie (G. et Kröpelin 1947) über den Einfluß des Heteroauxins auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas fortsetzt. Erweiterte Versuchsreihen bestätigen den früheren Befund, daß die Deplasmolysegeschwindigkeit von *Rhoeo*-Epidermiszellen durch niedere IES-Konzentrationen (10^{-7} bis 10^{-5}) stark erhöht wird. Neu dagegen ist die Beobachtung, daß die nächst höhere Konzentrationsstufe (10^{-4}), die in den vorigen Versuchen des Verfassers am selben Objekt noch den gleichen Effekt hervorgerufen hatte, diesmal die Deplasmolyse praktisch inhibiert. G. zieht aus diesem Ergebnis den Schluß, daß die in verdünnten IES-Lösungen auftretende Erhöhung der Wasserpermeabilität gar nicht vom Heteroauxin selbst hervorgerufen wurde, sondern von zelleigenem „Auxin“, das durch eine Art Adsorptionsverdrängung von der zugeführten IES bei ihrer Bindung an das Protoplasma freigesetzt worden sei. Freie IES selbst soll nach Guttenbergs Anschauung umgekehrt, viskositätsfördernd und permeabilitätsfördernd, wirken.

Es frägt sich, ob die beobachtete Reaktionsumkehr nicht eine einfachere Deutung zuläßt. Zunächst gibt G. selbst an, daß noch höhere Konzentrationen von IES (10^{-3}) den Protoplasten bereits sichtbar schädigen. Danach liegt es nahe zu vermuten, daß auch schon die 10^{-4} -Lösung zu pathologischen Veränderungen geführt hat, die in einer Beeinträchtigung der Semipermeabilität zum Ausdruck gekommen sind. G. erwägt diese Möglichkeit selbst, aber er verwirft sie schließlich, weil ein Austritt von Anthozyan aus den Zellen nicht zu beobachten war. Nun hat aber Lepeschkin schon vor Jahren (1934) darauf hingewiesen, daß eine Abnahme der Selektivität der Plasmahaut die osmotische Arbeitsfähigkeit einer Zelle selbst dann herabsetzen muß, wenn das Ausmaß des Zusammenbruchs noch nicht zu einer Abgabe von Zellsaft führt. Die annähernd statischen Verhältnisse in G.s Versuch (l. c., Tab. 1), die nicht etwa eine Verlangsamung, sondern tatsächlich eine Sistierung der Deplasmolyse zum Ausdruck bringen, scheinen uns sehr für eine bis zum Verlust der Semipermeabilität fortgeschrittene Auflockerung der Plasmahaut zu sprechen, die eine Wasseraufnahme des Protoplasten durch Vernichtung seines Arbeitspotentials verhindert.

Die von Guttenberg vorausgesetzte Beziehung zwischen Wuchsstoffkonzentration und Permeabilitätsveränderung wäre auch nicht ganz leicht mit Koningsbergers und Veldstras früher erwähnter Vorstellung von der Sensibilisator-Wirkung des Auxinmoleküls in Einklang zu bringen, nach der ja gerade die niedersten Konzentrationen Verdichtung, höhere dagegen Auflockerung der Membranstruktur zur Folge haben müßten (vgl. vor allem Veldstra et Booij, 1949, p. 293). — Andererseits dürfte die Anwendung der Hypothese einer IES-„Auxin“-Reaktionskette zur Erklärung der Wirkung niederer Heteroauxin-Konzentrationen bei unserem eigenen

Versuchsobjekt auf Schwierigkeiten stoßen, da im natürlichen Wuchsstoffsystem der Kartoffelknolle Indolacetaldehyd und Indolessigsäure selbst die Hauptrolle zu spielen scheinen (Hemberg 1947, Moewus 1948). Ein Gegenspiel zweier wesensverschiedener Wirkstoffe, die die Plasmahaut antagonistisch beeinflussen, ist hier also kaum denkbar. Und dennoch war auch bei unseren Versuchen in konzentrierten IES-Lösungen ein Umschlag der Permeabilitätsreaktion zu beobachten, der dem Verhalten der *Rhoeo*-Epidermis ähnelt.

Was schließlich die Frage nach der Primärwirkung der IES in physiologischen Konzentrationen betrifft, so lassen unsere neuen Versuche erst einmal auf ein annähernd gleichzeitiges Einsetzen der Permeabilitätserhöhung und der Plastizitätszunahme schließen. Da sich beide Effekte als atmungsbedingt erwiesen haben, besteht zunächst über die sekundäre Natur der Zellwandbeeinflussung kein Zweifel mehr. Schwieriger ist die Bewertung der Permeabilitätsreaktion der Plasmahaut. Da auch sie nur unter aeroben Bedingungen zustande kommt, hängt die Entscheidung wohl davon ab, ob hier die Atmung, unbeeinflußt durch den Wuchsstoff, nur dazu notwendig ist, um das Adsorptionspotential des Substrats für das Heterauxin auf das erforderliche Niveau zu heben. Nur in diesem Fall könnte die eigentliche Permeabilitätsreaktion als primär gelten. Künftige Untersuchungen werden also unsere Kenntnisse zuerst in dieser Richtung zu vervollständigen haben.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wird die Abhängigkeit einiger zellphysiologischer Wirkungen des Heterauxins (IES) von der O₂-Atmung untersucht. Als Versuchsobjekt diente stets das Speichergewebe von Kartoffelknollen.

1. 10⁻⁵-IES-Lösungen bewirken bei aerober Darbietung eine erhebliche Steigerung der Dehnbarkeit und der Plastizität der Zellwände. Bei anaerober Exposition bleibt dieser Effekt vollkommen aus.

2. In 10⁻⁴-IES-Lösungen verhält sich das Gewebe umgekehrt. Hier nimmt die Dehnbarkeit bei Durchlüftung nur schwach, bei Asphyxie dagegen sehr stark zu. Es wird vermutet, daß dieser letzteren Reaktion ein unphysiologischer, kolloidchemischer Mechanismus zugrunde liegt.

3. Das Ergebnis dieser Versuche spricht dafür, daß der Wuchsstoff unter physiologischen Bedingungen die mechanischen Eigenschaften der Zellwand indirekt durch eine Modifizierung des Atmungsstoffwechsels beeinflußt.

4. Die Wirkung des Heterauxins auf die aerobe Wasseraufnahme wird an drei dekadischen Konzentrationsstufen analysiert. Die Schwellenkonzentration scheint bei 10⁻⁶ zu liegen, das Optimum bei 10⁻⁵, während 10⁻⁴-Lösungen nach mehrstündiger Einwirkung das Gewebe bereits schädigen. Der Verlauf der Wirkungskurve läßt darauf schließen, daß in der höchsten Konzentrationsstufe eine anfängliche Erhöhung der Wasserpermeabilität von einem Zusammenbruch der Semipermeabilität abgelöst wird.

5. Das Saugpotential (S.P.) des Gewebes wird in Vergleichsversuchen nach aerober und nach anaerober Wasseraufnahme gravimetrisch gemessen. Nach 12stündiger aerober Absorption liegt das S.P. des Auxin-Materials

24,4% über dem der Kontrollen in Wasser. Beim anaeroben Gewebe dagegen beträgt der Unterschied nur 3,8%. — Nach 24stündiger aerober Wasseraufnahme differieren die S.P.-Werte bereits um 68% zugunsten der IES-Proben; andererseits ist das S.P. unter anaeroben Bedingungen jetzt in beiden Medien bereits negativ geworden, und zwar in Wasser erheblich stärker als in der Auxinlösung. Aus dem Verlauf der Bestimmungskurven ist zu schließen, daß der O₂-Mangel hier die Semipermeabilität des Wassermaterials bereits merklich beeinträchtigt hat.

6. Unter aeroben Bedingungen wird die Wasserpermeabilität des Gewebes durch 10⁻⁵-IES deutlich erhöht. Bei Unterdrückung der Sauerstoffatmung bleibt auch dieser Effekt aus. Dagegen scheint bei längerer Anaerobiose der Wuchsstoff die Plasmahaut zu verdichten und so den Zusammenbruch der Semipermeabilität entgegenzuwirken.

7. Kryoskopische Messungen der Zellsaftkonzentrationen bestätigen die Angaben früherer Autoren, daß die Absolutmenge der osmotischen Substanz während der aeroben Wasseraufnahme praktisch unverändert bleibt. Auch bei Berücksichtigung aller erfaßbaren Volumänderungen haben sich keine Anhaltspunkte für das Auftreten einer osmotischen Anatonose unter der Einwirkung von Heterauxin ergeben.

8. Während einer 2tägigen aeroben Absorptionsperiode verliert das Gewebe in 10⁻⁵-IES-Lösung etwa 16% mehr von der ursprünglichen Trockensubstanz als in Wasser. Dieser Mehrverlust, der nicht auf gesteigerte Exosmose zurückgeführt werden kann, läßt auf eine Stimulierung der Sauerstoffatmung durch den Wuchsstoff schließen.

9. Aus den geschilderten Beobachtungen geht hervor, daß von den geprüften Faktoren nur die Verringerung des Wanddrucks an der Steigerung des Saugpotentials entscheidend beteiligt ist. Die Frage, ob daneben auch eine atmungsbedingte metaosmotische Komponente in Betracht zu ziehen ist, muß zunächst noch unentschieden bleiben.

10. Die Wirkung der S.P.-Erhöhung auf die Wasseraufnahme wird durch die gleichzeitige, ebenfalls wuchsstoff- und atmungsbedingte Herabsetzung des Diffusionswiderstandes dynamisch unterstützt.

Literatur

- Blank, F., und H. E. Deuel, 1945: Der Einfluß von Heterauxin auf die Quellung von Membran-substanzen. Vierteljschr. Naturf. Ges. Zürich 88, 161.
- Bogen, H. J., 1951: Zellphysiologie und Protoplasmatik. Fortschr. d. Bot. 13, 192.
- Brauner, L., M. Brauner und M. Hasman, 1940: The relations between water intake and oxybrosis in living plant tissues. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul 5/B, 266.
- and M. Brauner, 1943: The relations between water intake and oxybrosis in living plant tissues II. The tensility of the cell wall. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul 8/B, 30.
- 1947: Untersuchungen über den Mechanismus der phototropischen Reaktion der Blattfiedern von *Robinia Pseudacacia*. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul 12/B, 35.
- und M. Hasman, 1947: Weitere Untersuchungen über die anomale Komponente des osmotischen Potentials lebender Pflanzenzellen. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul 12/B, 210.

- 1949: Über den Mechanismus der Heterauxin-Wirkung auf die Wasseraufnahme von pflanzlichem Speichergewebe. Bull. Fac. Med. Istanbul 12, 57.
- Bungenberg de Jong, H. G., G. G. P. Saubert und H. L. Booij, 1938: Einfluß organischer Nichtelektrolyte auf Oleat- und Phosphatidkoazervate V. Protoplasma 50, 1.
- Commoner, B., S. Fogel and W. H. Muller, 1943: The mechanism of auxin action. The effect of auxin on water absorption by potato tuber tissue. Am. J. Botany 30, 23.
- Frey-Wyssling, A., 1950: Physiology of cell wall growth. Ann. Rev. Plant Physiol. 1, 169.
- Guttenberg, H. v., und A. Beythien, 1951: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta 40, 36.
- und L. Kröpelin, 1947: Über den Einfluß des Heterauxins auf das Laminalgelenk von *Phaseolus coccineus*. Planta 35, 257.
- Hemberg, T., 1947: Studies of auxins and growth-inhibiting substances in the potato tuber and their significance with regard to its rest-period. Acta Horti Bergiani 14, 133.
- Kelly, S., 1947: The relationship between respiration and water uptake in the oat coleoptile. Am. J. Botany 34, 521.
- Koningsberger, V. J., 1947: Over de primaire werking van groeistoffen van het auxine-type. Meded. Kon. Vlaam. Akad. Wetensch. 13, 5.
- Lemmon, P., 1936: Respiration of potato tissue in relation to hydrogen-ion concentration of a surrounding solution. Am. J. Botany 23, 296.
- Lepeschkin, W. W., 1934: Zur Analyse des Turgordrucks der Gewebe, seine Variationen und der Mechanismus der Variationsbewegungen. Ber. D. Bot. Ges. 52, 475.
- Levitt, J., 1948: The role of active water absorption in auxin-induced water uptake by aerated potato discs. Plant Physiol. 23, 505.
- Lundegårdh, H., 1942: The growth of roots as influenced by p_{H} and salt content of the medium. Ann. Agr. Coll. of Sweden 10, 31.
- 1949: The influence of auxin anions on the growth of wheat roots. Ark. f. Bot. 1, 289.
- Moewus, Fr., 1948: Freier und gebundener Wuchsstoff in der Kartoffelknolle. Z. f. Naturf. 3 b, 135.
- Overbeck, Fr., 1934: Beiträge zur Kenntnis der Zellstreckung (Untersuchungen am Sporogonstiel von *Pellia epiphylla*). Z. f. Botanik 27, 129.
- Overbeek, J. v., 1944: Auxin, water uptake and osmotic pressure in potato tissue. Am. J. Botany 31, 265.
- Pohl, R., 1948: Ein Beitrag zur Analyse des Streckungswachstums der Pflanzen. Planta 36, 230.
- Reinders, D. E., 1938: The process of water intake by discs of potato tuber tissue. Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam 41, 820.
- 1942: Intake of water by parenchymatic tissue. Rec. Trav. Bot. Néerl. 39, 1.
- Robbins, W. J., and J. R. Jackson, 1937: Effect of 3-indole acetic acid on cell walls of stem and root. Am. J. Botany 24, 85.
- Ruge, U., 1937: Untersuchungen über den Einfluß des Heterauxins auf das Streckungswachstum des Hypokotyls von *Helianthus annuus*. Z. f. Botanik 31, 1.
- 1942: Zur Theorie der Mechanik der Zellstreckung und des Streckungswachstums. Planta 32, 571.

- Stewart, W. S., 1938: Extensibility of cell wall material in indole-3-acetic acid. Am. J. Botany 25, 325.
- Thimann, K. V., 1949: Plant hormones, growth and respiration. Biol. Bull. 96, 296.
- 1949: Plant growth hormones; from "The chemistry and physiology of growth." Princeton Univ. Press 61.
- Veldstra, H. und E. Havinga, 1943: Untersuchungen über pflanzliche Wuchsstoffe VII. Über Struktur und Wirkungsmechanismus der pflanzlichen Wuchsstoffe und Hemmstoffe. Rec. Trav. Chim. des Pays-Bas 62, 841.
- and H. L. Booij, 1949: Researches on plant growth regulators XVII. Structure and activity. On the mechanism of the action III. Biochim. et Biophysica acta 5, 278.
- Walter, H., 1951: Die kryoskopische Bestimmung des osmotischen Wertes bei Pflanzen. Handb. Biol. Arbeitsmeth. XI/4, 353.

Zur Kenntnis der Phlobaphenkörper in Früchten einiger *Malus*-Arten

Von

Davor Miličić

(Botanisches Institut der Universität Zagreb)

Mit 7 Textabbildungen

(Eingelangt am 26. April 1952)

Molisch (1916) fand in der Epidermis und im Hypoderm der Weinbeeren braune Gerbstoff-Phlobaphenballen, die unter direkter Einwirkung des Sonnenlichtes entstanden sind, und zwar durch allmähliche Umwandlung des anfangs farblosen und flüssigen Gerbstoffes in den festen Zustand, wobei sich eine Braunfärbung einstellt. Die Anwesenheit der Phlobaphenballen verleiht der beschienenen Seite der Früchte ihre braune Farbe, während die beschattete Seite ohne Ballen und lichtgrün bleibt.

Ahnliche Beobachtungen über die Verfestigung der Gerbstoffvakuolen wurden von mir bei Früchten von *Malus Toringo* und *M. floribunda* gemacht.

Malus Toringo. Die Untersuchungen wurden an den Früchten eines Strauches aus dem Botanischen Garten der Universität Graz durchgeführt. Einige reife Früchte dieses Strauches zeigten auf einem Teil der dem direkten Sonnenlichte ausgesetzten Seite rote Färbung, während der übrige Teil gelb gefärbt war. Die anderen Früchte, besonders jene, die durch Teile der Laubkrone verdeckt waren, waren auch im reifen Zustand vollkommen gelb, ohne rote Verfärbung.

Im rötlichen Teil der Früchte boten die Epidermiszellen ein buntes Bild. Meist wechselten Zellen, deren Vakuolen gelb bis braungelb gefärbt waren, mit Zellen, die rote, rosige oder seltener ungefärbte Vakuolen hatten, mosaikartig ab. Manchmal befanden sich in ein und derselben Zelle statt einer Vakuole mehrere, die sich oft durch Größe, Form und Pigment unterschieden (Abb. 1). Alle diese Vakuolen zeichneten sich durch starke Lichtbrechung aus. Die roten, rosigen und ungefärbten waren reich an Kolloidsubstanzen, wie sich dies nach Behandlung mit Fällungsreagenzien (Koffein, Antipyrin) zeigte; die gelben bis braungelben Vakuolen gaben dagegen mit diesen Reagenzien keinen Niederschlag.

Um einen klaren Einblick in die Verhältnisse, die diese stark lichtbrechenden Vakuolen des rot gefärbten Teiles der Früchte zeigten, zu bekommen, wurde die Epidermis der gelben Seite der reifen Früchte und die Epidermis der noch nicht ganz reifen Früchte untersucht. Meistens enthiel-

ten in beiden Fällen die Zellen nur eine große, ungefärbte und kolloidreiche Vakuole. Demzufolge scheint das Vorhandensein einer kolloidreichen Vakuole der gelben Seite der primäre, das Auftreten einer größeren Anzahl von stark lichtbrechenden Vakuolen in einzelnen Zellen des rot gefärbten Teiles (Abb. 1 u. 2) der sekundäre Zustand zu sein, der durch Zerklüftung der einheitlichen Vakuole zustande kommt.

Die Anwesenheit einer größeren Zahl von stark lichtbrechenden Vakuolen in einer Epidermiszelle stellt also einen besonderen, ungewöhnlichen Zustand

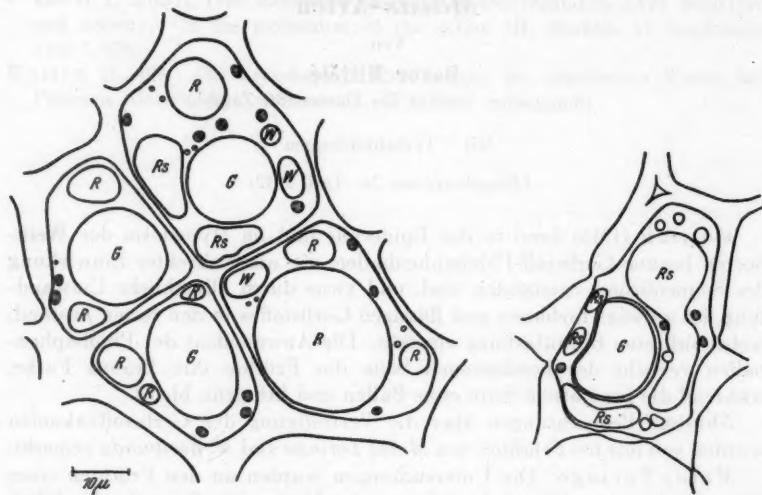


Abb. 1. Fruchtoberhaut von *Malus Toringo*. Flächenbild. *R* rote, *Rs* rosafarbige, *W* ungefärbte flüssige Vakuolen; *G* gelbe feste Vakuole (Phlobaphenkörper). In den Zellen außerdem Chromoplasten (punktiert) und Fettträpfchen.

Abb. 2. Flächenbild einer Fruchtoberhautzelle. Die feste Vakuole (*G*) ist in einer Membran eingekapselt.

des Vakuoms dar. Auch in Fällen, wenn die stark lichtbrechenden Vakuolen einzeln in einer Zelle vorkommen, konnte man manchmal Unregelmäßigkeiten in der Vakuolenform bemerken: so hatten z. B. solche Vakuolen bisweilen unregelmäßig eckige Umrisse anstatt der ovalen; manchmal zeigten sie wieder eine kleinere oder größere Anzahl von fingerförmigen Vorsprüngen.

Ahnliche Abweichungen der typischen Vakuolengestalt wurden bei kolloidreichen Vakuolen schon öfters beobachtet, so z. B. während der Dehydratation der Vakuolen (sowohl im Laufe der normalen Zellentwicklung als auch bei Plasmolyseversuchen). Diese Erscheinungen unterzog Guilliermond (1941) einer eingehenden Analyse.

Ein Teil der stark lichtbrechenden Vakuolen von *M. Toringo*, und zwar die gelb gefärbten (Abb. 3) der roten Fruchtseite, befand sich in einem völlig festen Zustande. Werden solche Zellen zerschnitten, so fliesst der feste

„Zellsaft“ aus den aufgeschnittenen Vakuolen nicht heraus (Abb. 4). Wiederholung dieses Versuches brachte immer dasselbe Ergebnis. Daraus läßt sich schließen, daß alle gelb gefärbten Vakuolen festen Aggregatzustand besitzen, sowohl jene, die fast die ganze Zelle ausfüllen, als auch die, welche sich in ein und derselben Zelle zusammen mit flüssigen, anthozyanhaltigen Vakuolen befinden. Die gelben Vakuolen zeichnen sich durch große Resistenz gegenüber Zersetzung aus, so daß sie in abgestorbenen Zellen der überreifen, teigig werdenden Früchte im ganzen Form, Farbe und Inhalt beibehalten.

Werden Schnitte mit den Zellen von dem in Abb. 1 u. 2 dargestellten Typus am Mikroschmelztisch erwärmt, so zersetzen sich die Anthozyanvakuolen und die Zellen sterben bereits bei Beginn der Erwärmung ab, während die gelben Vakuolen selbst bei einer Temperatur von 110°C unverändert bleiben. Die Epidermiszellen wie auch die übrigen Zellen des rötlichen Fruchtteiles lassen sich mit 2 bis 3 mol Glukoselösung plasmolyseren.

Während des Plasmolyseversuches sterben einzelne Zellen ab. Dabei platzt der Tonoplast der ungefärbten oder anthozyanhaltigen Vakuolen,

und der Vakuolinhalt füllt fast das ganze Lumen der Zelle aus. Hierbei bemerkt man oft Veränderungen an den Chromoplasten, die sich unter Quellung in scharf abgesonderte und homogen gelb gefärbte Tropfen größerem Volumens umwandeln.

Wie es aus Plasmolyseversuchen hervorgeht, sind die Zellen des in Abb. 1 u. 2 dargestellten Typus lebend. Sie stellen ein interessantes Beispiel der

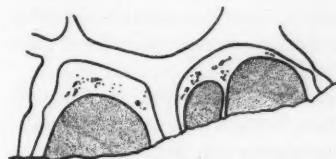


Abb. 4. Nach dem Durchschneiden der gelben Vakuolen (grau) fließt der feste „Zellsaft“ nicht aus.

Verschiedenartigkeit des Vakuolensystems dar. Es befinden sich in ein und derselben Zelle mehrere Vakuolen, die nicht nur verschiedenartig gefärbt, sondern auch verschiedenen Aggregatzustand besitzen: die einen sind flüssig, die anderen fest.

Ahnliche Verhältnisse wurden in den Früchten von *Prunus Virginiana* bemerkt (Milićić 1951), wo sich in den Hypodermzellen gelbe Körper finden, die ihrem Charakter nach den oben beschriebenen gelben Vakuolen entsprechen. Es ist dabei häufig eine Nekrose der die gelben Körper enthaltenden Zellen — wie bei *P. Virginiana* auch bei *M. Toringo* — zu sehen. Nach der Nekrose der Zellen ändern die Körper weder ihre Form noch ihren Inhalt.



Abb. 3. Fruchtoberhautzellen von *Malus Toringo* mit festen Vakuolen (Phlobaphenkörpern).

Wie die gelben Körper von *P. Virginiana* mit intrazellulären Zellulosemembranen umgeben sind, so ist eine Membran auch um einige feste Vakuolen von *M. Toringo* bemerkbar (Abb. 2). Infolge methodischer Schwierigkeiten (Zarteit der Membran) und Mangel an Versuchsmaterial war es nicht möglich, den chemischen Charakter der Membran eingehender zu ermitteln. Nach Behandlung der Schnitte mit Javellescher Lauge ließ sich konstatieren, daß die gelben Vakuolen (Körper) in dieser leicht löslich sind, während ihre Membran ungelöst bleibt und im Polarisationsmikroskop sich als doppelbrechend erweist. Diese Membran — nach Behandlung der Schnitte mit dem Reagens teilweise isoliert — färbte sich mit Chlorzinkjod tiefviolett und dichroitisch (parallel zur Schwingungsebene des Polarisators tiefviolett, senkrecht zur Schwingungsebene fast farblos). Es scheint demnach, daß die Gerüstsubstanz der Membran aus Zellulose besteht. Manchmal sind jedoch manche Membranen — selbst nach Behandlung mit Javellescher Lauge — stärker lichtbrechend als die Zellulosemembranen, und es scheint, daß die intrazellulären Membranen in diesem Falle mit irgendeiner in diesem Reagens nicht löslichen Substanz inkrustiert sind.

Besonders in den Zellen der gelben Fruchtseite von *M. Toringo* konnte man oft in ein und derselben Zelle neben einer kolloidreichen und stark lichtbrechenden Vakuole mehrere schwach lichtbrechende Vakuolen bemerken. Diese letzteren fanden sich im Plasma, entlang der Zellmembran, und waren klein, rund und farblos. Daß die ersten mit kolloid gelöstem Gerbstoff erfüllt waren, ging aus der starken Speicherungsfähigkeit für Neutralrot und Koffein und aus dem positiven Ausfall der Gerbstoffreaktionen hervor. Die schwach lichtbrechenden Vakuolen waren dagegen gerbstofffrei; in diesen ließ sich niemals ein Niederschlag mit Koffein hervorrufen. Zweifellos handelt es sich hier um die Erscheinung der „vacuoles spécialisées“, die von französischen Zytologen beschrieben wurde (Guilliermond 1941).

Der Inhalt der ungefärbten, kolloidreichen Vakuolen von *M. Toringo*, der in Alkohol leicht löslich war, gab klare Reaktionen auf Gerbstoffe. Mit FeCl_3 färbten sich diese Vakuolen schwarzgrün, mit $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ entstand ein brauner körniger Niederschlag, mit Vanillininsalzsäure (Reagens nach Lindt) und mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd (Reagens nach Joachimowitz) färbten sie sich rot, mit Natriumwolframat gelb, Rhodamin B zeigte einen Umschlag nach Blau und bewirkte einen blauen körnigen Niederschlag. Es sei hervorgehoben, daß die Hypodermzellen intensivere Reaktionen mit den erwähnten Reagenzien geben als die Epidermiszellen; so färben sich z. B. die ersten mit Lindt- und Joachimowitz-Reagens intensiv rotviolett, während sich die letzteren weniger intensiv rot anfärben.

Die festen Vakuolen waren unlöslich in siedendem Wasser, Alkohol, Xylol, Benzol und verdünnten Laugen, gaben intensive Färbung mit FeCl_3 und $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, mit dem Lindt- und Joachimowitz-Reagens dagegen blieben viele ungefärbt.

Es scheint demnach, daß die gelben Vakuolen Gerbstoff enthalten, der in einen festen Zustand übergegangen ist. Da die Beobachtungen von Molisch mit unseren gut übereinstimmen, sind wir der Ansicht, daß es sich auch in

unserem Falle um die Umwandlung des Gerbstoffes in ein Phlobaphen handelt. Diese festen Körper sind damit chemisch nicht näher charakterisiert, weil spezifische Reaktionen auf Phlobaphene fehlen. Ebenso, scheint es nicht möglich zu sein, diese Körper mittels mikrochemischen Reaktionen von Inklusen schärfer zu unterscheiden. Auch die Farbe der letzteren stimmt mit der Farbe der Phlobaphenkörper überein, denn nach Joachimowitz (1917) sind die Inklusen braun oder gelb gefärbt. Was das Ausbleiben der Reaktion mit Lindt- und Joachimowitz-Reagens betrifft, so sei hervorgehoben, daß Molisch (1916) bei den erwähnten Phlobaphenballen auch das Ausbleiben der Färbung mit dem Lindtschen Reagens bemerkte, und Joachimowitz (1917) zeigte, daß diese Reagenzien kein Kriterium für das Vorhandensein von Inklusen sein können, nachdem in verschiedenen Altersstufen der Inklusen die Reaktion stärker, schwächer ausfüllt oder sogar ganz ausbleiben kann.

Die oben genannte mosaikartige Verteilung der Zellen mit gelben Vakuolen und Zellen mit Anthozyan auf der beschienenen Fruchtseite läßt sich unserer Meinung nach so erklären, daß bei diesen Früchten die Bedingungen zur Bildung des Anthozyans und Phlobaphens die gleichen sind, und daß es vom „Zufall“ abhängt, welchem Prozeß in der einzelnen Zelle der Vorzug gegeben wird. Daß sich in der Epidermis der Apfelfrüchte und anderer Früchte unter Lichteinwirkung (UV-Strahlen) Anthozyan bildet, war schon bekannt (Küster 1935); die Entstehung des Phlobaphens unter derselben Wirkung wurde soeben erörtert. Man findet demnach bei diesen Früchten die interessante Tatsache vor, daß unter der Einwirkung des Lichts — aus ungefärbten Vakuolen gleicher Zusammensetzung — zwei verschieden gefärbte Verbindungen, Anthozyan und Phlobaphen, entstehen, und zwar manchmal eine neben der anderen in ein und derselben Zelle.

Es ist bekannt, daß bei Vitalfärbung Gerbstoff enthaltende Vakuolen Neutralrot und Koffein speichern. Dabei entstehen in solchen Vakuolen unter dem Einfluß des Neutralrots gewöhnlich krümelige und unter dem Einfluß des Coffeins dichte tropfenartige Niederschläge. Das Speichern dieser Substanzen geschieht in der Epidermis von *M. Toringo* auf eine andere Weise, nebst charakteristischen Entmischungsscheinungen, die wahrscheinlich dadurch bedingt sind, daß sich in den Vakuolen nebst Gerbstoff noch andere unbekannte Kolloidsubstanzen vorfinden.

Wird diese Epidermis mit einer Neutralrotlösung im Leitungswasser (ungefähr 1 : 10 000) behandelt, so färben sich die Vakuolen zuerst diffus (Typus der diffusen Farbstoffspeicherung). Nach kurzer Zeit beginnt die Entmischung, die meist auf zweierlei Weise abläuft: In einigen Zellen entstehen kleine, viskose und intensiv gefärbte Tropfen, die stärker lichtbrechend sind als der wäßrige Teil des Zellsaftes. Allmählich vergrößern sie sich, fließen miteinander zusammen, und schließlich kleben sie an dem Tonoplasten an (Abb. 5a). In anderen Zellen beginnt der Entmischungsprozeß in anderer Weise: es entstehen nicht wie im ersten Falle, viskose Tropfen in der wäßrigen Zellsaftphase, sondern umgekehrt, wäßrige Tropfen erscheinen innerhalb des viskosen Teils des Zellsaftes. Auch diese

Tropfen fließen zusammen und vergrößern sich, und während dieser Prozeß noch andauert, kontrahiert sich der zähflüssigere Teil des Zellsaftes gegen das Zentrum der Vakuole, indem er teilweise den Tonoplasten „benetzt“ und manchmal die Tropfen der wäßrigen Zellsaftphase eingebettet zurückhält (Abb. 5b). Plasmolyisiert man diese Zellen mit 1 mol KNO₃-Lösung, so lösen sich die Entmischungsfiguren größtenteils, und die Vakuolen färben sich wieder diffus. Nach der Deplasmolyse erneuert sich der Prozeß, und die Figuren treten wieder auf.

Der Entmischungsvorgang, der mit dem Erscheinen viskoser Tropfen beginnt, verläuft nach dem Schema der Koazervatbildung, wie dies von

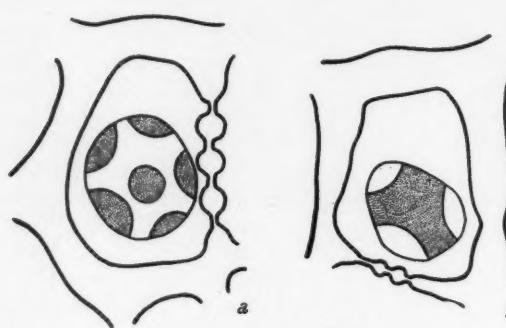


Abb. 5. Epidermiszellen mit Entmischungstropfen (grau) in den Vakuolen nach Vitalfärbung mit Neutralrot. — Nur die größte Vakuole und die Zellmembran sind eingezeichnet.

Bungenberg de Jong (1956, I: 9) beschrieben wurde: „Wenn die Bedingungen für Fusion der Tropfen günstig sind (die Viskosität des Koazerats nicht zu hoch), entstehen nach kürzerer Zeit Tropfen, die im Mikroskop sichtbar sind.“ Bei der Entmischung, die mit dem Erscheinen wäßriger Tropfen beginnt, zerteilt sich die koagulierte Zellsaftphase nicht in Tropfen, sondern bleibt während des ganzen Entmischungsprozesses kontinuierlich, wobei die wäßrige Phase nach außen diffundiert oder im Innern der koagulierten Phase in Form von Vakuolen abgesondert wird.

Ahnliche Entmischungsscheinungen entstehen nach Behandlung derselben Zellen mit 0,5% Koffeinlösung. In den einzelnen Zellen erscheinen tropfenartige Niederschläge; in den übrigen entstehen zu Beginn des Prozesses innerhalb der viskosen Zellsaftphase zahlreiche kleine wäßrige Tropfen, die ineinanderfließen. Während dieser Prozeß noch andauert, sondert sich die viskose Phase vom Tonoplasten ab und kontrahiert sich, wobei sie oft im Innern zahlreiche wäßrige Vakuolen noch weiter beibehält (Abb. 6). Während der Trennung der viskosen Zellsaftphase vom Tonoplasten bleiben ihre Teile in Form kleiner Tropfen häufig an dem Tonoplasten angeklebt und sondern sich auf diese Weise von dem übrigen, sich kontrahierenden Teil dieser Phase ab.

Wie man aus der Darstellung des Verlaufes des Entmischungsprozesses unter Einwirkung des Neutralrots und Koffeins sieht, laufen diese Vorgänge ziemlich parallel. Es scheint, daß die Unterschiede besonders dadurch verursacht sind, daß die unter der Einwirkung des Koffeins entstandenen Ent-

mischungsbildungen (Abb. 6) eine höhere Viskosität haben. Bei dem Entstehen dieser letzteren kann die koagulierte Phase unter dem Einfluß der Oberflächenspannung nicht immer gleich eine kugelige Form einnehmen, sondern sie behält im Falle besonders hoher Viskosität die verkleinerte Form der Zelle. Diesen letzteren Bildungen ähneln Entmischungen, welche sich unter der Einwirkung des Koffeins bzw. der Kaffeinsalze in gerbstoffführenden Vakuolen der Crassulaceen u. a. bilden (Klemm 1894: Taf. II.; vgl. auch Czapek 1910: 154).

In den Hypodermzellen, die intensive Reaktionen auf Gerbstoffe, insbesondere mit dem Lindt- und Joachimowitz-Reagens geben, deren Inhalt sich in teigig werdenden Früchten verfestigt und in die den Inklusen ähnliche Körper umwandelt, entstehen unter der Einwirkung des Koffeins und des Neutralrots ähnliche Entmischungen: hier bilden sich keine krümeligen oder tropfigen Niederschläge, sondern innerhalb der viskosen Phase erscheinen zahlreiche bald größere, bald kleinere wäßrige Tropfen.

Auch ohne Alteration der Zellen mit den erwähnten Lösungen bemerkt man — in der Epidermis von *M. Toringo* als seltene Erscheinung und im Hypoderm von *P. Virginiana* regelmäßig — das spontane Entstehen intravakulärer Bildungen, die oft vakuolisiert sind. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese durch einen Entmischungsprozeß entstanden sind, dessen Verlauf dem beschriebenen Vorgang, der unter der Einwirkung des Koffeins in der Epidermis von *M. Toringo* entsteht (Abb. 6), entspricht. Da diese Bildungen bei *M. Toringo* und *P. Virginiana* ähnlich sind und da sie in derselben Zellschichte, wo auch die gelben Körper auftreten, entstehen, könnten diese Bildungen von Wichtigkeit für eine bessere Kenntnis der Phlobaphenkörper sein.

Malus floribunda. Das Versuchsmaterial stammte aus Grazer Parkanlagen. Die Früchte waren im reifen Zustand an der dem Licht ausgesetzten Seite braun, an der beschatteten Seite gelb gefärbt. Die braune Färbung wurde durch die Anwesenheit der gelben bis gelbbraunen festen Vakuolen, welche zweifellos den soeben beschriebenen Phlobaphenkörpern von *M. Toringo* entsprechen, verursacht.

Bei den Früchten von *M. floribunda* boten die Epidermiszellen einfache Bilder, weil die Zerkliiftung der Vakuolen fast gänzlich ausblieb und weil das Anthozyan viel seltener in Erscheinung trat. Deshalb hatte an der beschatteten Seite jede Zelle nur eine farblose kolloidreiche Vakuole und an der besonnten Seite fast jede Zelle eine feste, gelbe bis gelbbraune Vakuole. Besonders klare Bilder zur Erklärung des Verfestigungsvorgangs der



Abb. 6. Epidermiszellen nach Behandlung mit Koffein. In den Vakuolen sind starke vakuolisierte Entmischungstropfen sichtbar.

Vakuolen gaben jene Früchte, bei denen dieser so weit fortgeschritten ist, daß die Hälfte der Fruchtoberfläche braun gefärbt war. An der gelben Seite solcher Früchte, die nicht der Einwirkung des direkten Lichtes ausgesetzt war, enthielten die Epidermiszellen lebende Protoplasten mit farblosen Vakuolen. In der Übergangszone zwischen der braun und gelb gefärbten Fruchtoberfläche hatten die einen Zellen farblose und flüssige, die anderen gelbe und feste Vakuolen. Alle Zellen waren aber noch lebend, wie dies durch Plasmolyse mit 3 mol Glukoselösung bewiesen werden konnte. Im Zentrum der braun gefärbten Fruchtoberfläche, die dem senkrechten Einfall der Sonnenstrahlen ausgesetzt war, waren die Epidermiszellen abgestorben und enthielten je eine feste, gelbe Vakuole. Demnach verfestigen und färben sich die Vakuolen, die am Anfang farblos und flüssig waren, unter der Einwirkung des Lichts. Die festen Vakuolen befinden sich eine Zeitlang innerhalb des lebenden Protoplasten, der jedoch bald stirbt.

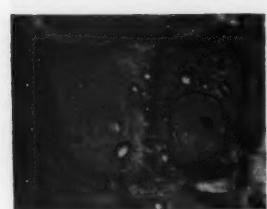


Abb. 7. Fruchtoberhautzellen von *Malus floribunda* nach Behandlung mit Javellescher Lauge. Die durch das Reagens gelöste gelbe Vakuole ist zuweilen in einer Membran eingekapselt, welche in der rechten Zelle sichtbar ist.

Nach Behandlung der Schnitte mit Javellischer Lauge konnte festgestellt werden, daß auch bei diesen Früchten die gelben Vakuolen manchmal in einer intrazellulären Membran eingekapselt sind, jedoch ist diese Erscheinung weit seltener als bei *M. Toringo* (Abb. 7).

Das Auftreten von Vakuolen ohne Kolloide um die gerbstoffführende Zentralvakuole kommt bei diesen Früchten stärker zum Ausdruck als bei *M. Toringo*, so daß man solche Vakuolen in der Regel leicht bemerken kann. Die Zentralvakuolen geben positive und ungefähr gleich intensive Reaktionen auf Gerbstoff (FeCl_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, Natriumwolframat, Rhodamin, *p*-Dimethylaminobenzaldehyd) wie bei *M. Toringo*. Feste Vakuolen reagieren auch bei diesen Früchten mit dem Joachimowitz-Reagens selten positiv.

Unter der Einwirkung des Neutralrots und Koffeins entstanden in Vakuolen der Epidermis ähnliche Entmischungen wie bei *M. Toringo*. Sowohl Neutralrot als auch Koffein riefen in der viskosen Phase stets ein Entstehen wäßriger Vakuolen hervor, jedoch sonderte sich der zähflüssigere Teil — zum Unterschied von den Erscheinungen bei *M. Toringo* — nur in seltenen Fällen vom Tonoplasten ab.

Wie man aus dieser Darstellung der Genesis der Phlobaphenkörper von *Malus*-Früchten ersieht, sind die Vakuolen jener Teil der Zellen, der in den festen Zustand übergeht. Dabei bilden sich feste und gefärbte Körper, die manchmal mit einer Membran umhüitet sind. Ähnliche eingekapselte und gefärbte Körper wurden auch bei *Prunus-Virginiana*-Früchten bemerkt. Ob diese letzteren Körper auch verfestigte Vakuolen darstellen, bleibt noch unbekannt. Zum Unterschied von den Körpern der *Malus*-Früchte bilden

sich die Körper von *P. Virginiana* anscheinend nicht unter der Einwirkung direkter Insolation.

Der Versuch, im Laboratorium mittels UV-Strahlen die Bildung der Phlobaphenkörper bei Früchten von *M. floribunda* hervorzurufen, gab kein positives Resultat. Die Früchte wurden mit einer Hanaulampe zweimal täglich je zehn Minuten lang durch sieben Tage bestrahlt und befanden sich während der Bestrahlung 50 cm von der Lichtquelle entfernt.

Zusammenfassung

Die von Molisch in der Epidermis und dem Hypoderm der Weinbeeren entdeckte Erscheinung, daß sich an der den Sonnenstrahlen ausgesetzten Seite dieser Früchte aus flüssigem Gerbstoff feste und gefärbte Phlobaphenballen bilden, wird auch in der Epidermis der Früchte von *Malus Toringo* und *M. floribunda* beobachtet. Da — besonders bei *Malus-Toringo*-Früchten — unter der Einwirkung des Lichtes an der besonnten Fruchtseite reichlich auch Anthozyan erscheint, kommt es an dieser Seite zu einer mosaikartigen Verteilung der Zellen, von denen die einen feste, gelb bis gelbbraun gefärbte Phlobaphenkörper (verfestigte Vakuolen), die anderen flüssige, anthozyanführende Vakuolen enthalten. In manchen Fällen befinden sich beide Arten von Vakuolen in ein und derselben Zelle. Einige feste Vakuolen (Phlobaphenkörper) sind in einer intrazellulären Membran eingekapselt, deren Gerüstsubstanz Zellulosecharakter hat.

In den flüssigen, ungefärbten Vakuolen, aus denen Phlobaphenkörper entstehen, wurde die Anwesenheit des Gerbstoffes sichergestellt. Es wird aber vermutet, daß den Gerbstoffen auch andere kolloide Substanzen beigemengt sind.

Die Untersuchung wurde während meines dreimonatigen Aufenthaltes im Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz durchgeführt. Dem Vorstand des Institutes, Herrn Professor Dr. F. Weber, sowie Herrn Professor Dr. O. Härtel und Frau Dr. L. Brat danke ich bestens für ihr liebenswürdiges Entgegenkommen.

Literatur

- Bungenberg de Jong, 1936: La coacervation, les coacervats et leur importance en biologie. I. et II. Paris.
- Czapek, 1910: Über Fällungsreaktionen in lebenden Pflanzenzellen und einige Anwendungen derselben. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 28.
- Freudenberg, 1932: Die natürlichen Gerbstoffe. Klein's Handbuch der Pflanzenanalyse. Spezielle Analyse, 2. Teil. Organische Stoffe 2. Wien.
- Guilliermond, 1941: The cytoplasm of the plant cell. Waltham, Mass. USA.
- Joachimowitz, 1917: Ein neues Reagens auf Phloroglucin, Catechin und ihre Derivate sowie über die Verbreitung derselben im Pflanzenreiche. Biochem. Zeitschr. 82.
- Klemm, 1894: Aggregationsstudien. Botanisches Centralblatt 57.
- Küster, 1935: Die Pflanzenzelle. Jena.
- Milićić, 1951: Sur les anthocyanophores dans l'épicarpe de *Prunus Virginiana* L. Bull. Intern. Acad. Yougoslave, Zagreb, n. s. livre 5.
- Molisch, 1916: Über den braunen Farbstoff „goldgelber“ Weinbeeren. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 34.
- Strugger, 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanzen. 2. Aufl. Berlin.
- Tunmann-Rosenthaler, 1931: Pflanzenmikrochemie. Berlin.

Sammelreferat

Über die Genese und die Struktur der Chloroplasten bei den höheren Pflanzen

Ergebnisse und Probleme

Von

M. C. De Rezende-Pinto¹

(Universität von Porto, Portugal)

Mit 7 Textabbildungen

(Eingelangt am 12. Februar 1952)

Die Genese der Plastiden

Das Problem der Genese der Plastiden ist von besonderem Interesse bei den höheren Pflanzen und zwar infolge des Differenzierungsgrades, den diese Zellbestandteile bei den höheren Pflanzen erreichen können. Wie man weiß, ist diese Differenzierung mit der organischen Differenzierung dieser Pflanzen eng verbunden.

Was die niederen Pflanzen anbetrifft, so gibt es bei diesen eine solche Vielfältigkeit der Plastidentypen nicht; in der Mehrzahl der Fälle beschränkt sich der Plastidentyp auf einen einzigen oder zwei: die Chloro- oder Chromoplasten sind die einzigen vorkommenden Elemente.

Vom phylogenetischen Standpunkt aus scheint diese Tatsache von großer Bedeutung zu sein, da man die Chloroplasten als ursprüngliche Zellbestandteile und alle anderen Plastidentypen, die man bei den höheren Pflanzen antrifft, als ihre Abkömmlinge ansehen muß. Wenn es sich daher um diese Pflanzen handelt, pflegt man umgekehrt die kleinen Proplastiden (Randolph, 1922), die fast an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit stehen, als ursprüngliche und die übrigen Kategorien der Plastiden als Abkömmlinge zu betrachten.

Die morphologische Gestalt und das Fehlen einer differenzierten Färbetechnik der Proplastiden war offenbar der Grund ihrer Verwechslung mit den Mitochondrien (vgl. z. B. Rezende-Pinto, 1948 a, S. 6) und infolgedessen auch die Grundlage der Theorie des mitochondrialen Ursprungs der Plastiden (Lewitsky, 1910; Guilliermond, 1911 a, 1911 b, 1942; Emberg er, 1920, 1928; usw.).

¹ Stipendiat des „Instituto para a Alta Cultura“.

Bei der Untersuchung der Frage der Entstehung der Plastiden bei *Culcita macrocarpa* Pr., *Solanum tuberosum* L., *Iris germanica* L. sowie bei anderen Pflanzen wandte Rezende-Pinto (1948a) als Differenzierungsmethode der beiden Kategorien der Zellorganellen (Proplastiden und Mitochondrien): 1. Fixierungsmittel auf der Grundlage der Essigsäure, 2. die Methoden der Färbung „Tannin — Eisen — I“ von Salazar (1920, 1944) und „Tannin — Eisen — III“ von Rezende-Pinto (1947) an. Ein solches Vorgehen in bezug auf die Wahl des Fixierungsmittels auf der Basis der Essigsäure hatte seine Begründung in der Zerstörung der Chondriosomen durch diese Säure (vgl. Benda, 1902; Gattenby, 1917 a, 1917 b); in bezug auf die Färbung hatte eine solche Behandlung seine Begründung darin, daß die Tannin — Eisen — I- und Tannin — Eisen — III-Methoden die Chondriosomen nicht färben, wohl aber die Plastiden (vgl. Salazar, 1943, S. 287).

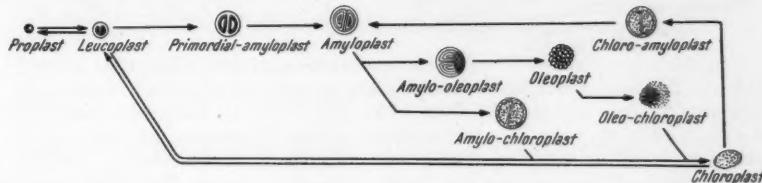


Abb. 1. Schematische Zusammenfassung der bei den verschiedenen Elementen der Plastidialentwicklung beobachteten Umwandlungen. Die Pfeile bezeichnen die Richtung dieser Entwicklungsänderungen (nach Rezende-Pinto, 1948a, Abb. 6, S. 44).

Auf diese Weise konnte ich nicht nur den Säurewiderstand der verschiedenen Elemente der Plastidentypen als auch ihre „ α -Tanofylie“ und „ γ -Tanofylie“ feststellen, was mich dazu führte, irgendwelche Verwandtschaftsbeziehungen mit dem Chondriom auszuschließen. Ich konnte außerdem die Verwandschaftsbeziehungen und möglichen Umformungen der verschiedenen Elementen der Plastidentypen feststellen, welche in einem Schema (Abb. 1) wiedergegeben sind.

Die mikroskopische Struktur der Chloroplasten

Nach der Wiederentdeckung der Granulastruktur der Chloroplasten (Meyer, 1883; Schimper, 1885) von Heitz (1932, 1936a, 1936b) und Doutreligne (1935) scheint als Grundsatz aufgestellt worden zu sein, daß die Grana verstreut im ungefärbten Stroma auftreten, und zwar gemäß der Ansicht einiger Autoren in verschiedenen Tiefen (vgl. Heitz, 1936) gemäß der Auffassung anderer an der Oberfläche (vgl. Wieler, 1936).

Hinsichtlich der Verteilung der Grana entschied ich mich für ihre oberflächliche Lokalisierung (vgl. Timiriazev, 1903; Priestley und Irving, 1907), ebenso wie für ihre Unabhängigkeit (vgl. Rezende-Pinto, 1948a, S. 22).

1. Wenn der Abbau und die Ableitung der Assimilationsstärke verhindert wird, indem ein Zweig von *Hedera Helix* oder irgendeiner anderen

Pflanze mit peripherem Phloëm geringelt wird, so fangen die amylogenen Vakuolen an, an Volumen zuzunehmen, werden hervorstehend, und die Grana besetzen nach und nach die Furchen zwischen den amylogenen Vakuolen, bis die Granulastruktur unsichtbar wird, wodurch einer Reihe grüner Gürtel, die die Furchen umgeben, Platz eingeräumt wird. Es genügt aber, den Zweig ein wenig oberhalb der Ringelungsstelle abzunehmen und ihn in Wasser zu stellen, damit die Translokation wiederhergestellt wird und mit ihr die ursprüngliche Granulastruktur. Ein solches Phänomen kann nur eine Erklärung finden, wenn wir eine Verbindung zwischen den Grana annehmen, da diese sonst gleichmäßig über die ganze Oberfläche des Chloroplasts verstreut bleiben müßten.

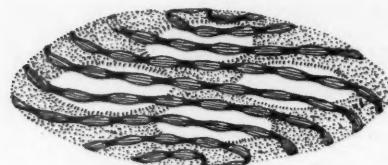


Abb. 2. Schema eines Chloroplasten bei höheren Pflanzen, Seitenansicht. Über dem Stroma (punktiert), mit den amylogenen Vakuolen (weiß), rollen sich die Chloroplastonemata auf, gebildet von den Grana (gestrichelt), verbunden durch die Intergrana (schwarz).

den Eindruck gebend, daß es sich um etwas handele.

2. Wenn man die Chloroplasten einem mäßigen Druck zwischen Objektträger und Deckglas unterwirft, bemerkt man häufig eine Zerstörung derselben und die Aufstellung der Grana in Reihen (vgl. Rezende-Pinto, 1948b, Abb. 2). Diese Anordnung der Grana in Reihen wurde schon früher von Doutreligne (1935) beobachtet.

3. Wenn die Chloroplasten unmittelbar nach ihrer Isolierung in destilliertes Wasser gebracht werden, kann man Phänomene von Turgeszenz beobachten (vgl. Neish, 1939). Jedoch ist es, um solche Phänomene hervorzurufen, nötig, daß zwei Bedingungen verwirklicht sind: daß sich die Chloroplasten noch im lebenden Zustand befinden und daß die amylogenen Vakuolen in diesem Augenblick einen löslichen Zucker enthalten, der ihnen eine gewisse osmotische Saugkraft verleiht.

Das von den Chloroplasten unter diesen Umständen angenommene Aussehen ist sehr verschieden: manchmal behalten die amylogenen Vakuolen ihre Individualität, indem sie ein bläschenartiges Aussehen annehmen; sie tauchen an der Oberfläche des Chloroplasts auf und schieben dabei die Grana auf die schmalen Streifen zusammen, die die Furchen zwischen den Vakuolen darstellen; manchmal verschmelzen die Vakuolen und der grüne Teil besetzt einen der Pole der Blase; manchmal platzen auch die Vakuolen und lassen die Chloroplastonema-Struktur (vgl. Rezende-Pinto, 1948b) in Augenschein treten.

Welcher Art jedoch das Aussehen der Chloroplasten, das sie während oder am Schluß der besagten Prozesse annehmen, auch sein mag, es ist eine

Der Verlust der Sichtbarkeit der Granulastruktur ist nur ein scheinbarer und Folge davon, daß die verschiedenen Körnerreihen, ihrer geringen Elastizität zu verdanken, die Furchen zwischen den amylogenen Vakuolen besetzen, welche Regionen kleineren Umganges sind. Durch ihre Anhäufung in diesen Regionen ergibt sich die Annäherung der verschiedenen Körner bis unter die Grenze der mikroskopischen Beobachtung, gleichmäßig grün gefärbte Reihen

Folge dieser Chloroplastonema-Struktur und folglich ein Beweis für dieselbe, wie auch für die Existenz einer semi-permeablen Membran (vgl. Granick, 1938) innerhalb der Chloroplastonemen.

Die Chloroplastonemen sind Fasern in Rosenkranzform, bestehend aus Grana und ungefärbten Intergrana, schraubenförmig über dem Stroma eingerollt (vgl. Rezende-Pinto, 1948b, Abb. 6—9) gemäß dem Schema in Abb. 2 und den Mikrofotos der Abb. 3.



Abb. 3. Chloroplastonema-Struktur verschiedener Chloroplasten; a *Calendula officinalis*; b *Cotyledon Umbilicus*; c *Anthoceros laevis*.

Über die Entstehung der Chloroplastonemen

Eine einfache Prüfung des Schemas, Abb. 1, zeigt, daß die Chloroplasten normalerweise von den Leucoplasten abstammen, wenn sie auch gelegentlich von den Amyloplasten herkommen können (vgl. Mulder, 1830; Quekett, 1846), oder von den Oleoplasten (vgl. z. B. Rezende-Pinto, 1948a); aber damit diese Umwandlung vor sich gehen kann, ist eine kurze Belichtung unumgänglich nötig.

Im Grunde ist ein Amyloplast nichts anderes als ein Leukoplast, dessen amylogene Vakuolen beachtliche Mengen von Stärke enthalten. Diese Tatsache führte mich dann dazu, den Mechanismus der Bildung der Chloroplastonemen zu erforschen, ausgehend von den Amyloplasten der Knolle von *Solanum tuberosum*, da diese ein Untersuchungsmaterial ist, das „in vivo“ leicht zu behandeln ist, nicht nur wegen der größeren Ausmaße der Amyloplasten, als auch dadurch, daß diese Transformation in Amylochloroplasten nach unserem Belieben ausgelöst werden kann.

Wenn man eine Knolle von *S. tuberosum* dem Licht aussetzt, beginnt das Zytoplasma, das jeden Amyloplasten einhüllt, körnig zu werden und nach einiger Zeit nehmen diese Granulationen, anfänglich ungefärbt, grüne Farbe an und bilden sich so zur wahren Grana um. Diese sind, wie ich vorher berichtete und wie man aus der Abb. 4 sehen kann, nicht isoliert, sondern längs der Fasern gelagert, während die Chloroplastonemen mehr oder weniger regelmäßig um den Amyloplast herum eingerollt sind.

Wenn Zahl und Größe der Chloroplastonemen nicht genügend groß ist, um einen solchen Amyloplasten völlig einzuhüllen — was fast immer der Fall ist, wenn dieser sehr groß ist —, ist es leicht, sie loszulösen und so ihre



Abb. 4. Amyloplast von *Solanum tuberosum*, von einer dem Licht ausgesetzten Knolle stammend. Die Lage der Chloroplastonemen sichtbar.

deutlich oberflächliche Lage zu beobachten. Diese Tatsache scheint die alte Hypothese von Belzung (1891) zu bestätigen, nach welcher der grüne assimilatorische Teil zytoplasmatischen Ursprungs ist.

Jedoch war es mir trotz der Langsamkeit, mit der die Umbildung der Amylo- in Amylochloroplasten vor sich geht, nicht möglich, das zu beobachten, was Strugger als „primäre Grana“ bezeichnet, außer wenn wir unter diesen die ursprünglichen plasmatischen Granulationen verstehen, eingehüllt von den Amyloplasten, ehe diese die Grünfärbung annehmen.

Über die submikroskopische Struktur der Chloroplasten

Wenn die Chloroplasten einmal in die sie aufbauenden Elemente zerlegt worden sind, so drängt es sich einem zur Vervollständigung der Beobachtung auf, zu erforschen, bis zu welchem Punkt sie einen Einfluß auf die totale Doppelbrechung dieser Organe ausüben können, die

zuerst beobachtet wurde von Scarth (1924) und nachher von anderen Autoren (vgl. z. B. Küster, 1933; Menke, 1934a; Weber, 1936).

Diese Anisotropie geht nach Menke (1934b) auf eine Lamellarstruktur dieser Organe zurück, jene

Abb. 5. a Schematische Darstellung eines Chloroplasten einer höheren Pflanze im Querschnitt gesehen im UV-Mikroskop (nach Menke, 1940b). b Schematische Darstellung der Chloroplastonema-Struktur (schraubenförmig) eines Chloroplasten einer höheren Pflanze, gesehen im normalen Mikroskop, bei natürlichem Licht (nach Rezende-Pinto, 1948a). Zu beachten die Analogie der beiden Schemata und die Verschiedenheit, die die beiden Autoren darzustellen behaupten.

Struktur, die nach diesem Autor im UV-Mikroskop zu beobachten ist (vgl. Menke, 1940, Abb. 2). Wenn wir jedoch die Schemata von Menke (1940, Abb. 2) und von Rezende-Pinto (1948b, Abb. 3), hier dargestellt in Abb. 5, gegenüberstellen, können wir

nicht umhin, eine augenscheinliche Ähnlichkeit dieser zu bemerken, wenn auch die beiden Autoren damit zwei völlig verschiedene Strukturtypen darstellen wollen: Menke, Schichten, Rezende-Pinto, Chloroplastonemen, d. h. Fasern mit dichtgedrängten Knoten in Form eines Rosenkranzes mit abgeplatteten Perlen.

1948 gab ich die Möglichkeit zu, daß die Chloroplastonema-Struktur für die beobachteten optischen Phänomene verantwortlich sein könnte, namentlich für die Doppelbrechung, jene Möglichkeit, die 1949 von Frey-Wyssling außer Frage gestellt worden zu sein scheint; trotzdem scheint die Doppelbrechung zu erwägen zu sein, vorausgesetzt, daß die Dicke der Chloroplastonemen (Seitenansicht) bedeutend geringer sein kann als die



Abb. 6. Schematische Darstellung der Chloroplastonemen: a Ansicht von oben — isotrop; b Seitenansicht — Anisotropie unterbrochen, nur die Grana verhalten sich anisotrop, optisch negativ.

mittlere Länge des weißen Lichtes und seiner gleichmäßig sehr kleinen Entfernung. Bei Chloroplasten von *Spirogyra*, die bei Verletzung wie auch beim Tod der Zellen kontrahiert sind, habe ich immer in der Ansicht von oben, bei welcher sie normalerweise isotrop sind, eine Anisotropie beobachtet, deren Erklärung mir durch eine Lamellar- textur nicht leicht scheint, welche vielmehr von der chloroplastonematischen Struktur herröhrt: mehr oder weniger parallele Aufstellung der Chloroplastonen men entsprechend der Verringerung der Spiralhöhe.

Früher hatte ich Gelegenheit, das Verhalten der isolierten Chloroplastonen men im Polarisationsmikroskop zwischen gekreuzten Nikols zu studieren; dabei konnte ich feststellen, daß sie, von der Spitze aus gesehen, völlig isotrop sind, während sie in der Seitenansicht eine leicht unterbrochene Anisotropie zeigen, dem anisotropen Gebiete der Grana entsprechend, die isotropen stellen den Intergrana (Abb. 6 und 7). Der annähernde Wert des Phasenunterschiedes, errechnet mit dem Kompensator von Senarmont, war von $\gamma = 1/18$. Messung ausgeführt mit grünem monochromatischem Licht, das Material befand sich in destilliertem Wasser.

Auf Grund der großen Schwierigkeit der Untersuchung der Chloroplastonen men war es mir bis jetzt nicht möglich, die Messungen in Medien von zunehmender Lichtbrechung zu verfolgen, um schließlich festzustellen, daß diese negative Anisotropie im ganzen Chloroplasten, wie vorauszusehen, die Folge einer Lamellar- textur der Grana ist (vgl. Frey-Wyssling, 1948, S. 162; 1949, Abb. 12).

Herrn Prof. Weber danke ich für die liebenswürdige Aufforderung, meine Ansicht über die Struktur der Chloroplasten in dieser Zeitschrift darzulegen.

Literatur

- Benda, C., 1902: Erg. Anat. Entw. 12, 743.
- Belzung, E., 1891: Ann. Sc. Nat. Bot. 7, 5—22.
- Doutreligne, J., 1935: Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam Proc. 38, 886.
- Emberger, L., 1920: C. R. Acad. Sc. Paris 170, 282.
— 1928: Bull. Soc. Bot. France 75, 696.
- Frey-Wyssling, A., 1948: Submicroscopic Morphology of Protoplasm and its Derivatives. Elsevier Publishing Company, Inc. New York, Amsterdam, London, Brussels.
— 1949: Ber. schweiz. bot. Ges. 59, 5—22.
— 1949: Fortsch. Bot. 12, 68.
- Gattenby, J. B., 1917 a: Quart. J. Mier. Sci. 62, 407.
— 1917 b: Ibid. 62, 555.
- Granick, S., 1938: Am. J. Botany 25, 558.
- Guilliermond, A., 1911 a: Compt. Rend. Acad. Sc. Paris 153, 290.
— 1911 b: Ibid. 153, 1492.
— 1941: Précis de Biologie Végétale. Masson, Paris.



Abb. 7. Mikrophotographie zweier Bruchstücke von Chloroplastonen men von einer belichteten Knolle von *Solanum tuberosum* in Seitenansicht im Polarisationsmikroskop zwischen gekreuzten Nikols und mit dem Kompensator von Senarmont ($\gamma = 1/18$). Zu bemerken die unterbrochene Anisotropie der Chloroplastonen men.

- Heitz, E., 1932: *Planta* 18, 616.
— 1936 a: *Ber. dtsh. bot. Ges.* 54, 362.
— 1936 b: *Planta* 26, 134.
Küster, E., 1933: *Ber. dtsh. bot. Ges.* 51, 525.
Lewitsky, G., 1910: *Ber. dtsh. bot. Ges.* 28, 538.
Menke, W., 1934 a: *Protoplasma* 21, 279.
— 1934 b: *Ibid.* 22, 56.
— 1940: *Naturwiss.* 28, 158.
Meyer, N., 1883: *Das Chlorophyllkorn*. Leipzig.
Mulder, G. J., 1830: *Versuch einer physiologischen Chemie*. Braunschweig.
Neish, A. C., 1939: *Biochem. J.* 33, 293, 500.
Priestley, J. H. und A. A. Irving, 1907: *Ann. Botany* 21, 407.
Quekett, E. J., 1846: *Ann. Mag. Nat. Hist.* 18, 82.
Randolph, L. F. W., 1922: *Bot. Gaz.* 73, 337.
Rezende-Pinto, M. C. de, 1947: *Stain Technology* 22, 3.
— 1948 a: *Brotéria* (C. N.) 17, 5—47.
— 1948 b: *Portug. Acta Biol. (A)* 2, 111.
Salazar, A. L., 1920: *C. R. Soc. Biol.* 81, 1655.
— 1945: *Anat. Anz.* 94, 284.
— 1944: *Stain Technology* 21, 149.
Searth, G. W., 1924: *Quart. J. exp. Physiol.* 14, 99.
Schimper, A. F. W., 1885: *Jb. wiss. Bot.* 16, 1.
Strugger, S., 1950: *Naturwiss.* 37, 166.
Timiriazev, C., 1905: *Proc. Roy. Soc. London, B*, 72, 424.
Weber, F., 1936: *Molisch-Festschr.* (Wien), 447.
Wieler, A., 1936: *Protoplasma* 26, 295.

Referate

Bessis, M.: Applications à l'hématologie des techniques de cytologie générale. (Ombrage. Contraste de phase. Microscopie électronique. Cytochimie. Ultracentrifugation.) Extrait de l'Encyclopédie médico-chirurgicale. Examens du sang 3: 1952 (Paris).

Indem die Protoplasmistik für die als Objekt leicht zugänglichen Blutzellen stets aufgeschlossen sein wird, ist auch an dieser Stelle eine kurze Anzeige der hier vereinten neueren Methoden in Anwendung auf jenes Objekt am Platze. In der Hämatologie beginzen solche neuere Untersuchungsweisen wie auch sonst vielfach in der Cytologie früher bevorzugte histologische Färbungen zu verdrängen und fallen nun als eine Art „experimenteller Mikroskopie“ in den eigensten Arbeitsbereich der Protoplasmistik. Hier wird in der ersten Mitteilung die Technik der Beschattung mit Metallsalzen an Blutaustrichen nach lichtmikroskopischer Untersuchung (3 S., Abb. 1—8), in einer weiteren die Anwendung der Phasenkontrastmikroskopie auf Blutzellen (8 S., Abb. 9—42) behandelt; dabei wird neben der gewöhnlichen Arbeitsweise eine Variante mit Kompression der Zellen zur Sichtbarmachung ihres Inneren und werden weitere Verfahren auf 5% Gelatine und mit Wiederaufschwemmung des Ausstriches mitgeteilt. Zur Darstellung kommen Kerne, Nukleolen, Cytoplasma, Mitochondrien und spezifische Granulationen bei Neutro-, Eosino- und Basophilen, nekrotische Strukturänderungen sowie zahlreiche Zellen- und thrombocytaire Serie, der Mono- und Plasmacyten und die Zellformen typen der erythrocytaire, megalocytare, granulocytare, lymphocytare und thrombocytaire Serie, der Mono- und Plasmacyten und die Zellformen bei Leukämien und Myelomen. (Vgl. auch Bessis, Acta Union intern. contre le cancer 7, 646—659, 1951.) In großen Zügen ähnlich gliedert sich die dritte Abteilung der elektronenoptischen Untersuchung (9 S., Abb. 45—72). Die vierte bringt eine nur sehr kurze cytochemische Darstellung (3 S.) über verschiedene Fixierungsweisen, die wichtigsten Proben vor allem auf Nucleoproteine, Lipoide und Glykogen und über Metachromasie. Den Abschluß bildet eine kurze Mitteilung über die Ultrazentrifugation (2 S., Abb. 73—75) bei 200 000 bis 400 000 g für $\frac{1}{2}$ —2 h, untersucht mit Phasenkontrast nach Giemsafärbung oder diversen cytochemischen Eingriffen. Zahlreiche ausgezeichnet gelungene Abbildungen (neben den nicht gezählten Schemata) und je eine Farbtafel zu den beiden letzten Artikeln veranschaulichen in dieser auch drucktechnisch hervorragenden Arbeit die Vorteile der angewandten Methoden und überzeugen von ihrer Brauchbarkeit.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

McDonald, T. R. R., und C. A. Beevers: The crystal structure of α -D-glucose. Acta Cryst. 3, 394—395 (1950).

Diese auch für biochemische Probleme nicht uninteressante Arbeit gibt eine vollständige Kristallstrukturbestimmung von α -D-Glucose durch Fouriersynthese. Die Kristallklasse ist eine orthorhomatische, die Elementarzelle besitzt die Dimension: $a = 10,56 \text{ \AA}$, $b = 14,84 \text{ \AA}$, $c = 4,93 \text{ \AA}$ mit vier Molekülen. Hervorzuheben ist die beobachtete „Sesselform“ des Pyranoseringes sowie die Wasserstoffbrücken (H-bonds) zwischen $O^1—O^3*$ (bzw.

O^5 Ringsauerstoff— O^1*), O^2 — O^6* , O^3 — O^6* bzw. O^2* , O^4 — O^4* und O^6 — O^2* bzw. O^3* . (Die Sauerstoffatome sind in der üblichen Reihenfolge ähnlich den C-Atomen bezeichnet die O-Atome der benachbarten Glucosemoleküle sind durch * gekennzeichnet.) Alle OH-Gruppen sind demnach an H-Bindungen beteiligt.

E. Treiber (Graz).

- Fernández-Morán, H:** The submicroscopic organization of Vertebrate nerve fibres. An electron microscope study of myelinated nerve fibrils. Expt. Cell Res. 3: 282—359 (1952);
Robertis, E. de, and J. R. Sotelo: Electron microscope study of cultured nervous tissue, ibid. 3: 453—452 (1952).

Bei der daneben mit Phasenkontrastbeobachtungen verglichenen, durch eine große Zahl hervorragend gelungener Aufnahmen veranschaulichten Untersuchung zuerst frischer Internodien markhaltiger Nerven bei Frosch, Ratte, Katze und Kaninchen durch F. sind in der Myelinscheide Lamellen von 80 Å Dicke gefunden worden, welche sich nach Verknitterungen beim Ultrazentrifugieren als präformiert erweisen; durch eine besondere Technik sind quergitterige Muster kristalliner Strukturen ähnlich wie an Myelinlamellen nach Os-Fixierung erhalten und als Fixierungsartefakt erkannt worden. Im Axon treten Filamente unbestimmter Länge von 100 bis 200 Å Durchmesser vorwiegend parallel zur Faserlänge auf. Im Rückenmark ist ein neuer Typus Fasern von 0,1—1 μ Durchmesser, die als die histologischen Fasern angesprochen werden und eine Scheidenmembran von 60—80 Å Dicke aufweisen, dargestellt worden, an marklosen Fasern von Rückenmark und sympathischem System endlich kompakte Bündel knotiger Filamente von 100—200 Å Dicke und unbestimmter Länge, die von einer 60—100 Å dicken körnigen Membran umkleidet werden.

Gewissermaßen die Vorstadien verschieden Differenzierungsgrades als mono- und multipolare Neuroblasten sind in der anderen Arbeit an Kulturen *in vitro* von 5—14 Tage alten Hühnchenembryonen studiert worden. In der frühen Fibrogenese treten in einer cytoplasmatischen Matrix leptotische Stränge hoher Elektronendichte auf, welche aus einzelnen Mikroblasen von 300—500 Å Durchmesser gebildet werden; zylindrische Ketten solcher Blasen werden als Neurotubuli angesehen, die aus dem Plasma isoliert werden konnten, meist aber zur Bündelung von Fasern von 0,1—1 μ Dicke tendieren. Neben dem Grundplasma sind an der Faserbildung keine Mitochondrien oder anderen geformten Konstituenten beteiligt. Bei der Degeneration von Nervenfasern aus dichtgepackten, parallel gestellten Neurotubuli treten Blasen von 500—1000 Å Durchmesser auf. Das terminal wachsende Ende als Zentrum fibrogenetischer Aktivität läßt eine an Volumen zunehmende Masse aus undurchdringlich gepackten Mikroblasen ähnlich jenen in der frühen Fibrogenese erkennen. Auch diese Befunde werden durch instruktive Aufnahmen erläutert.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

- Frey-Wyssling, A.:** Deformation and Flow in Biological Systems. (Deformation and Flow, edited by J. M. Burgers, J. J. Hermans and G. W. Scott Blair, Vol. 1.) XII u. 552 Seiten, mit 109 Abbildungen und vielen Tabellen. North-Holland Publishing Company, Amsterdam 1952. Preis hfl. 58.—.

Aus dem weiten Felde rheologischer Phänomene sind nur die wichtigsten ausgewählt worden, so zuerst ein besonders ausführlicher Bericht über das Protoplasma (W. Seifriz, Philadelphia), in welchem Viskosität und Non-Newtonscche Natur, Elastizität und Kontraktilität, Fließverhalten und strukturelle Organisation ebenso wie optische Anisotropie, aber auch Oberflächen-

phänomene, Aggregation, Quellung und Schrumpfung behandelt und damit die verschiedensten Protoplasmatiker angesprochen werden. Im allgemeinen cytologischen Teile folgen Abschnitte über den Muskel (M. G. M. Pryor, Cambridge, Engl.) und über pflanzliche Zellwände (Herausg.). Im botanischen Teile finden sich Kapitel über die Wasserbewegung (R. D. Preston, Leeds) und jene von Latex (Herausg.) nebst einem Anhang über das Fließen durch elastische Capillaren (Hermanns, Groningen), während im zoologisch-medizinischen Teile die Rheologie von Blut und Lymphe (L. E. Bayliss, London), Cerebrospinal- und intraokularer Flüssigkeit (M. Amsler und A. Huber, Zürich) und Sekreten (Scott Blair, Reading) dargestellt werden und ein Kapitel über allerhand Diffusionen (P. Eggleton, Edinburgh) den Abschluß bildet. Angehängt ist ein Bericht über das erste internationale Colloquium, das sich im Juli 1950 in Lund mit rheologischen Problemen in der Biologie befaßte. Bei diesem Kolloquium wurde hauptsächlich über Mitteilungen von Seifriz (Protoplasma), J. E. Harris (Kernviskosität und Thixotropie), dem Ref. (Rheo-Dichroismus des Protoplasmas), A. V. Hill, F. Buchthal und Mitarbeiter (Muskel), Preston (Transpirationsstrom) und dem Herausgeber (Fließen und Latex), von Fähraeus und McDonald (Blut), Glover (Uterussekret), Day, Eggleton und Boothby (Diffusionsprobleme) diskutiert. Den abgedruckten Referaten sind die am meisten anregenden Diskussionen hinzugefügt, so daß der Verlauf der Veranstaltung gut zur Anschauung kommt. Wenn die Rheologie außer dem Fließverhalten auch alle die Phänomene bei der Deformation umfaßt, ist das Gebiet auch für biologische Objekte sehr vielschichtig und oft nicht leicht den gebräuchlichen physikalischen Konstanten zuordnen. Wo gibt es beispielsweise im Biologischen Kapillaren, welche impermeabel sind und beim Hindurchfließen von Flüssigkeiten von unverändertem Durchmesser bleiben? Niemand weiß besser als der Protoplasmatiker um die Komplexität der von ihm studierten Materie. Wenn man dann in diesem Buche die erfolgreichen Bemühungen zu quantitativer Erfassung so vieler rheologischer Gesetzmäßigkeiten findet, so wird man erfreut davon Kenntnis nehmen, bis zu welchem Grade auch der Protoplasmatiker und Cytologe rheologisch zu arbeiten vermag und sicher mit reger Anteilnahme einem zu erwartenden zweiten Kolloquium über die behandelten und weitere rheologische Gegenstände in Biologie und Medizin entgegensehen. Sicher wird die verdienstvolle Herausgabe der hier vereinten zehn Forschungsabschnitte aber auch zu neuen Untersuchungen anregen und für solche Fälle in dem Verzeichnis der verarbeiteten Literatur (21 S.) und den Registern der Autornamen und Sachgegenstände (15 S.) eine nützliche Handreichung bieten. Daß die Serie der Monographien in den weiter bereits angekündigten Bänden auch dem protoplasmatisch arbeitenden Rheologen wichtige Hilfsmittel für sein so viel komplizierteres Material zu bringen verspricht, kann schon heute erwartet werden.

Hans H. Pfeiffer (Bremen).

Hock, Ch. W.: The Fibrillate Structure of Natural Cellulose. J. Polym. Science 8, 425—434 (1952).

Während sowohl die micellare Struktur (auf röntgenoptischer Grundlage) als auch die lichtmikroskopische, zum Teil in den letzten Jahren auch die submikroskopische Struktur (Elektronenmikroskopie!) der Cellulose als gut erforscht gelten kann, sind im (submikroskopischen) Übergangsgebiet noch manche Unklarheiten. Nach Meinung des Verfassers läßt das heutige Schema der kristallinen und amorphen Bereiche den fibrillären Charakter der Cellulose nicht genügend zutage treten. Da aber Mikrofibrillen auf Grund elektronenmikroskopischer Arbeiten als fundamentales Strukturelement erkannt worden sind und auch die Besonderheiten vieler chemischer

Umsetzungen sich durch die Annahme von Mikrofibrillen mit durchschnittlich guter Kettenordnung erklären lassen, schlägt Verfasser folgendes Bild vor: die Mikrofibrillen bestehen aus Fadenmolekülen, die mit Ausnahme gelegentlicher größerer Unregelmäßigkeiten eine mehr oder minder gute Ordnung (etwa im Nahbereich) und dichte Packung besitzen. Hochgeordnete Bereiche in diesen Strängen müssen eher als zufällig denn als fundamentale Einheiten betrachtet werden. Die interfibrillären Gegenden jedoch müssen im Gegensatz zur Fibrille als weitgehend amorph aufgefaßt werden.

E. Treiber (Graz).

Mukherjee, R. R., und H. J. Woods: Mercerization of Jute. Nature 165, 818, (1950).

Das unterschiedliche Verhalten von Jute gegenüber anderen Fasern (z. B. Ramie) beim Mercerisieren, nämlich ein unvollständiger Übergang von der (nativen) Cellulose I in die (Hydrat-) Cellulose II über die Alkalicellulose wird durch eine mehr oder minder feste Querverbindung zwischen Lignin und den Celluloseketten erklärt (identisch mit der Arbeit: Mukherjee, R. R., und H. J. Woods: An X-Ray Study of the Soda-Celluloses of Jute treated with caustic soda at room temperature, J. Text. Inst. 41, T 422—428 [1950]).

E. Treiber (Graz).

Nagai, Susumu: Experimental studies on the reduction of silver nitrate by plant cell. I. Dynamic process in reduction and precipitation. Journ. Inst. Polytechn. Osaka City Univ. 1: 33, 1950 (6 Fig.). II. Nature and responsibility of substances which cause the reduction. Ebenda 2: 1, 1951 (2 Fig.).

Die Reduktion des Silbernitrats durch Chloroplasten („Molisch-Reaktion“) erfolgt am deutlichsten in einem Bereich zwischen p_{H} 4—6; im stärker sauren Gebiet tritt überhaupt keine Reaktion ein, im stärker alkalischen fällt reduziertes Ag flockig aus. Ähnliche Verhältnisse lassen sich auch im Modellversuch mit Ascorbinsäurelösungen in Agar und Aluminiumhydroxyd als Adsorbens reproduzieren. Dabei zeigt sich, daß eine kolloide Ausfällung des Silbers bzw. Schwärzung der $\text{Al}(\text{OH})_3$ -Partikel in 0,025%iger Ascorbinsäurelösung wie in der Zelle bei p_{H} 4 beginnt und mit steigender Konzentration des reduzierenden Agens immer weiter ins saure Gebiet rückt; das gleiche gilt für die flockige Ausfällung, die in der schwächsten Konzentration um p_{H} 9 auftritt, in 0,1%igen Lösungen aber schon um p_{H} 3 einsetzt. Verfasser lehnt auf Grund dieser Versuche die Lokalisation des reduzierenden Agens innerhalb der Chloroplasten ab, sie erfolgt im Zellsaft. Bei niedrigem p_{H} und geringer Konzentration tritt Ausfällung des Silbers in kolloidaler Dispersion ein, die Teilchen wandern dann zu den absorbierenden Teilchen oder zu den Chloroplasten und verursachen dort oberflächlich absorbiert deren Schwärzung; bei hoher Konzentration und alkalischer Reaktion tritt rasche und grobe Ausfällung ein, das Silber kann dann nicht mehr absorbiert werden und bleibt im Zellsaft (ein ähnliches Bild liefert auch Behandlung der Zelle mit KMnO_4). Im Dunkeln tritt nur Flockung, aber keine Schwärzung der Chloroplasten auf, was als eine „elektrische Polarisation“ der Chloroplasten durch das Licht gedeutet wird. Das reduzierende Agens ist auch außerhalb der Zelle nach papierchromatographischer Trennung des Blattextraktes mittels essigsaurer *n*-Butanols wirksam; in erster Linie kommt Ascobinsäure in Betracht, in einem Falle auch Dioxypyrenylalanin mit fast der gleichen Reduktionskraft wie erstere; andere Stoffe, wie Tannin oder Flavone, reduzieren nur sehr schwach und nur in alkalischer Lösung, nicht aber in saurer.

O. Härtel (Graz).

Neeb, O.: Hydrodictyon als Objekt einer vergleichenden Untersuchung physiologischer Größen. 28 Abb. Flora 139: 39—95, 1952.

Die Schule Pirschs hat es sich zur Aufgabe gestellt, die Wirkungen der mineralischen Ernährungsfaktoren auf möglichst breiter Basis zu untersuchen und außer Wachstum und Stoffwechsel auch protoplasmatische Faktoren einzubeziehen. Mit vorliegender Arbeit Neebs wird die Chroococcale *Hydrodictyon* in die physiologische Methodik eingeführt; es bietet neben einer relativ einfachen Zellorganisation den Vorteil leichter Messbarkeit sowohl der Einzelzelle wie auch des ganzen Netzes (Durchschnittswerte) und einer mehrwöchigen Generationsdauer, die die Einhaltung definierter und reproduzierbarer Bedingungen erheblich erleichtert. Die Kultur gelingt gut in Uspensky-Nährösung halber Originalkonzentration mit Zusatz von Gartenerde-Dekokt; letzterem kommt neben der Rolle als Eisen- und Spurenelement-Lieferant (insbesondere Zn) auch eine entgiftende Wirkung hinsichtlich Schwermetallionen zu. *Hydrodictyon* ist außerordentlich Cu-empfindlich, schon 10 γ Cu pro Liter setzt die Wachstumsrate auf die Hälfte herab; erst in zweimal glas- und einmal quarzdestilliertem Wasser ist das Wachstum auch ohne Erdabködung optimal. Zur Anzucht ist schwaches Licht nötig (im Frühjahr bis 800 Lux, im Herbst höchstens 300 Lux, es besteht also eine jahreszeitliche Periode der Lichtresistenz); zu starke Beleuchtung hat Deformationen zur Folge, die auf ein Mißverhältnis von Plasma- und Zellwachstum zurückgehen. Wesentlich zur Kultur ist ferner intermittierendes Licht mit 12 Stunden Intervall; dadurch wird auch eine Periodizität verschiedener physiologischer Größen (Zellwachstum, Photosynthese und Atmung, damit auch osmotischer Wert, Harnstoffpermeabilität) induziert, die nach Aufhören des Licht-Dunkel-Wechsels noch einige Zeit nachklingt. Für zellphysiologische Untersuchungen eignet sich *Hydrodictyon* wegen seines dicken Plasmalschlauches allerdings weniger gut. So bedarf z. B. der im Vergleich mit höheren Pflanzen auffällige gleichmäßige und der sinkenden Wachstumsleistung reziproke Anstieg der Plasmolysezeit (ohne Altersabfall) noch näherer Untersuchung. Auch Wachstumshemmung z. B. durch leichte Cu-Vergiftung oder Kalimangel erhöht die Plasmolysezeit. K-Mangel senkt ferner auch die photosynthetische Leistung und damit den osmotischen Wert und sistiert die Assimilatsspeicherung. N-Mangel wirkt im wesentlichen umgekehrt.

O. Härtel (Graz).

Paech, K., und W. Simonis: Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. 39 Abb., XI, 252 Seiten. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1952. DM 24.—.

Jahrzehntelang haben die verschiedenen deutschen pflanzenphysiologischen Praktika gute, ja sehr gute Dienste geleistet. In letzter Zeit aber hat die Pflanzenphysiologie in vieler Hinsicht ein neues Gesicht bekommen, und es ist dringend nötig geworden, daß die neuen Gesichtszüge auch in den praktischen Übungen, die in diese Wissenschaft einführen, zum Ausdruck kommen. Dies ist offenbar die Aufgabe der Reihe der pflanzenphysiologischen Praktika. Nachdem 1949 Band II (Strugger: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze) und 1951 Band IV (Ruge: Übungen zur Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Pflanze) erschienen sind, liegt nunmehr mit dem Buch von Paech und Simonis der I. Band vor. Schon die Tatsache, daß es heute nicht mehr möglich ist, daß ein Autor ein Praktikum für das gesamte Gebiet der Pflanzenphysiologie schreibt, und die weitere Tatsache, daß dazu auch nicht mehr ein Band genügt, läßt deutlich erkennen, wie groß der Umfang dieser Wissenschaft geworden ist und welche hohe Bedeutung man ihr besonders auch im Unterricht zubilligt und zubilligen muß. Wirkliche Vertiefung gerade in die Stoffwechselphysiologie, die ja die Grundlage für das Verstehen anderer Gebiete der Physiologie

bildet, kann nur durch eigenes praktisches Arbeiten erworben werden und nur dieses gibt die Möglichkeit, auf eigenen Füßen stehen und weiterarbeiten zu können. Natürlich sind dazu chemische Vorkenntnisse erforderlich. Mancher Studierende wird dies vielleicht als unbequem empfinden und wird sich auch nicht ganz leicht tun; aber die Notwendigkeit muß eingesehen, die Vorkenntnisse müssen angeeignet werden. Dann aber wird der Studierende diese Übungen nicht nur mit großem Erfolg, sondern auch mit Genuss durcharbeiten.

Man findet in diesem Praktikum nicht nur Kapitel, die darin natürlich erwartet werden, wie Mineralstoffhaushalt, Aschenuntersuchung, Photosynthese, Stoffwechsel verschiedener organischer Verbindungen, sekundäre Pflanzenstoffe, Enzyme, Atmung, Gärung, Stoffwechsel der Heterotrophen, sondern auch einen besonders ausführlichen Abschnitt über den Wasserhaushalt mit allen seinen Teilgebieten; auch das Durchlüftungssystem und der Wärmehaushalt der Pflanze wird behandelt. Bei einem Praktikum, das in die Mannigfaltigkeit der Pflanzenstoffe einführt, besteht immer die Gefahr, daß der Studierende beim chemischen Arbeiten in der Pflanze schließlich nur mehr das „Material“ sieht und fast dabei vergißt, daß das Leben dieses „Material“ geschaffen hat. In diesem Praktikum ist vieles aufgenommen, was die Gefahr, in der Pflanze nur Material zu sehen, vermeiden hilft. Vielleicht könnten noch Versuche dazu kommen, die die Empfindlichkeit der Pflanze als „Lebendes Reagens“ vor Augen führen. So etwa der Vitamin-B₁-Nachweis mit Hilfe von *Phycomyces*, der biologische Nachweis des Colchicins (Bildung von Keulenwurzeln etwa an *Allium* oder *Salix*), *Aspergillus* als Kupferreagens (verschiedene Farbe der Sporen je nach dem Kupfergehalt des Mediums). Vielleicht ließen sich auch Versuche über die Wirkung der Antibiotika einfügen.

Solche Vorschläge sollen aber nicht etwa den Eindruck verwischen, den das Buch macht, er ist der allerbeste.
F. Weber (Graz).

Rånby, B. G.: The Physical Characteristics of Alpha-, Beta- and Gamma-Celulose. Svensk Papperstidning 55, 115—124 (1952).

Ahnlich wie man in der biochemischen Pflanzenuntersuchung die durch Alkali extrahierbaren Hemicellulosen in die Fraktionen A, B und C einteilt (vgl. A. G. Norman, The Biochemistry of Cellulose, Oxford 1937), unterscheidet man in der Technik zwischen einer durch Essigsäure präzipitierbaren β - und einer nicht durch Säuren fällbaren γ -Cellulose. α -Cellulose stellt die alkaliresistente, sehr hochmolekulare, praktisch reine Cellulose dar.

Verfasser untersucht zwei Proben von Holocellulose (Skelettsubstanz), d. i. der gesamte Kohlehydratanteil des Holzes (Cellulose einschließlich der gesamten Hemicellulose [Holzpolyosen]) aus Tannenholz sowie α -, β - und γ -Cellulose aus technischem Nadelholzzellstoff mit dem Bestreben, Einblicke in die Bindungsverhältnisse zwischen Cellulose und den Polyosen in ligninifizierten Holzfasern zu gewinnen sowie zu Aussagen zu kommen, ob Cellulose eine reine einheitliche „Phase“ darstellt. Ferner soll untersucht werden, wieweit die technische Differenzierung in der α -, β - und γ -Cellulose physikalisch, genauer gesagt wissenschaftlich begründbar ist und aufrechterhalten werden kann.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Holocellulose zeigte einerseits die bekannten Micellarstränge (70—80 Å im Durchmesser; Bakterienzellulose \sim 120 Å), die offenbar nicht durch Celluloseketten miteinander quer vernetzt sind, andererseits „wolkige“, praktisch strukturlose Gebilde, gegebenenfalls mit Andeutung einer Körnchenstruktur. Die entsprechende Untersuchung der α -, β - und γ -Cellulose läßt erkennen, daß die α -Fraktion aus Micellsträngen aufgebaut und vermutlich eine reine Phase mit definierbarer Grenze gegenüber den anderen Kohlehydraten ist,

die β -Fraktion eine Mischung aus kurzen Strangfragmenten und kleinen Klümpchen, die in der Aufnahme praktisch nicht weiter auflösbar sind, besteht, während die γ -Cellulose so gut wie keine Struktur zeigt.

Die röntgenoptische Untersuchung ergibt bei α - und β -Cellulose nach der Präparation identische Gitter (Cellulose II), während γ -Cellulose — fraktionierte in einen Anteil γ_1 und γ_2 — Abweichungen zeigt, und zwar ist γ_1 noch ähnlich dem Hydratcellulosediagramm, während γ_2 ein komplizierteres Röntgendiagramm aufweist. (Anmerkung des Referenten: eigene, unveröffentlichte Röntgenuntersuchungen an γ -Cellulosen zeigten keine so starken Abweichungen gegenüber der Hydratcellulose, hingegen ist das UV-Absorptionspektrum [in LiBr] deutlich gegenüber α - und β -Cellulose verschieden und qualitativ mit stark abgebauten Oxyzellulosen identisch.)

E. Treiber (Graz).

Rippel-Baldes, A.: Grundriß der Mikrobiologie. Zweite Auflage. Mit 153 Abb., VIII u. 404 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1952. Geb. DM 36.—.

Anstoß und Wurzel jeder Wissenschaft ist das praktische Bedürfnis und die Erfahrung, ihre wichtigste Triebfeder ist der Drang nach Wissen; aber erst Abgrenzung, Objekt und Methode kennzeichnen die selbständige Disziplin. In der Botanik und Zoologie hat sich dieser Prozeß längst vollzogen, beim jüngsten Zweig der Biologie, der Mikrobiologie, sind wir Zeugen dieser Entwicklung. Es unterliegt zwar kaum einem Zweifel, daß sie bereits eine selbständige Wissenschaft geworden ist; ihr Gegenstand liegt fest, auch die Methodik ist wohl ausgebildet; bezüglich der Abgrenzung gegen die älteren Disziplinen ergeben sich aber insoferne Schwierigkeiten, als sie ja Organismen zum Gegenstand hat, die bereits in der Botanik abgehandelt werden. Ihre Abgrenzung ist also nach anderen als nach formalen Gesichtspunkten vorzunehmen. Rippel-Baldes bekennt sich zur Abgrenzung auf Grund der Stellung der Mikroorganismen in der Natur: „Die Mikroorganismen sind die notwendigen Vermittler der Nahrung — mittelbar oder unmittelbar — für Mensch und Tier“, womit sich die Mikrobiologie auf den gesamten Lebensraum bezieht. Daß auch durch diese Definition keine allerorts scharfe Grenze gegenüber Nachbardisziplinen (z. B. der Bodenbiologie) gezogen werden kann, darf nicht als Nachteil gewertet werden, denn jede entwicklungsfähige Wissenschaft hat ihre Grenzgebiete; anderseits wird sie aber auf diese Weise jedem einseitigen und die Entwicklung einer wirklichen allgemeinen Mikrobiologie (wie ein Blick in ihre Geschichte zur Genüge lehrt) nur hindernden Anspruch, z. B. seitens der Medizin, der landwirtschaftlichen Bakteriologie usw. wirksam entzogen. Daß dieses Ziel im vorliegenden Grundriß in glücklichster Weise erreicht wurde, zeigt nicht nur die Gliederung des Werkes, sondern ergibt sich auch Seite für Seite bei dessen Lektüre. Der erste Hauptteil handelt vom Bau und der Entwicklung der Zelle, nicht nur der Bakterien, sondern auch der Pilze (Mikrobiologie ist nicht Bakteriologie allein!). Dem Bestreben, womöglich nur Gesichertes aufzunehmen, entspringt eine gewisse Zurückhaltung gegenüber allerneuesten Forschungsergebnissen, wie z. B. in der Frage des Zellkernes oder der Sexualität der Bakterien. Die ausführliche Behandlung des Bau- sowie des Betriebsstoffwechsels ist nicht nur wegen seiner grundlegenden Bedeutung für die praktischen bzw. industriell genutzten Vorgänge wichtig, sondern auch für den allgemein interessierten Biologen besonders wertvoll, haben doch Mikroorganismen schon vielfach die Klärung allgemeiner Vorgänge im Zellgeschehen (nicht zuletzt auch in der Protoplasmatik) ermöglicht. Der vierte, etwa ein Drittel des ganzen Werkes umfassende Abschnitt „Die Stellung der Mikroorganismen in der Natur“ endlich bringt eine gründliche und ausgezeichnete Darstellung der Ökologie der Mikroorganismen, ihrer Verbreitung im Wasser, im Boden

und in der Luft, ihres Zusammenlebens usw. Hier findet auch das an sich so wichtige Gebiet der tierischen und pflanzlichen Infektionslehre und der medizinischen Bakteriologie seinen im Rahmen einer allgemeinen Mikrobiologie zukommenden Platz als der Wissenschaft von Anpassungsformen an spezielle Lebensweisen. — Das ausgezeichnete und vorzüglich ausgestattete Werk ist weit mehr als ein „Grundriss“; im Hinblick auf das riesige darin verarbeitete und durch zahlreiche Literaturhinweise belegte Tatsachenmaterial darf es als Lehrbuch sowie als Nachschlagewerk für jeden Biologen, auch wenn er sich nicht gerade als Mikrobiologe spezialisiert, bezeichnet und wärmstens empfohlen werden. O. Härtel (Graz).

Cell Function in Relation to Structure. Abdr. (3 S.) aus: *Science 114* (December 1951).

Es handelt sich hier um eine Zusammenstellung der Referate eines Symposions gelegentlich der Tagung der Society of General Physiologists in Woods Hole (Mass.) 1951. Einleitend wird von D. Mazzia (Berkeley) als Hauptziel die Beschäftigung mit dem Regulationsvermögen der Zelle als direkter Veränderung herausgestellt. Während P. Weiss (Chicago) die Bedeutung der molekularen Konfiguration bei plasmatischer Reproduktion, Wachstum, Differenzierung usw. nach experimentellen Erfahrungen erörtert, werden von S. Hajdu und A. Szent-Györgyi (Woods Hole) Regulationen an Herzmuskelfasern, von A. Rothstein (Rochester) die Funktion von Enzymen an der Zelloberfläche, von Chr. B. Anfinsen jr. (Washington) die Zwischenstufen bei der Proteinsynthese und von T. Hayashi (New York) die biologische Aktivität zusammengedrückter einmolekulärer Proteinschichten behandelt. Weiter beschäftigt sich H. Borei (Stockholm) mit Atmungsveränderungen von Seegeleiern nach Befruchtung und der O_2 -Aufnahme reaktiver Oxydasesysteme, H. Herrmann (Univ. of Colorado) mit dem Mechanismus der embryonalen Herausbildung von Muskelgewebe, A. Marshak (New York) mit gegenseitigen Wirkungen zwischen Kern und Cytoplasma und H. Stern, V. Allfrey und A. E. Mirsky (New York) mit einigen Enzymen der Zellkerne. Die kolloidale Regulation der Protoplasmatätigkeit wird von L. V. Heilbrunn (Philadelphia) untersucht, der den Parallelismus von soloider und geloider Veränderung in Rinde und Innern mit der Aktivierung bei zahlreichen Zelltypen herausstellt, während A. I. Lansing (St. Louis) das Ca als Indikator und Regulator der Zellaktivität behandelt und u. a. auf die Reduktion des Regulationsvermögens mit dem Altern eingeht. Das Wesen der Spezifität zwischen Virus und Wirt nimmt Th. T. Puck (Univ. of Colorado) zum Gegenstand seiner Untersuchungen und zeigt, wie die initiale Haftung beider im Auftreten elektrostatischer Bindungen zwischen Ionengruppen an den beiderlei Oberflächen besteht und ein zweiter Schritt des Viruseingangs eine irreversible temperaturabhängige Reaktion ist, welche durch verschiedene Agentien inaktiviert werden kann. Den Abschluß bilden Ausführungen von S. Inoué (Washington) über Regulation in der leptonischen Organisation des mitotischen Spindelplasmas; er hält bei den polarisationsoptischen Analysen weder die auch vom Ref. vertretene Taktoidhypothese noch die ebenfalls angenommenen Strömungsbewegungen für ausreichend zur Erklärung der Doppelbrechung des Spindelplasmas, sondern nimmt für dieses eine spezielle Art von Gelstruktur aus orientierten, längsgestreckten und in labiler Bindung miteinander verketteten „Micellen“ an.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

Dan, K., and K. Okazaki: Change in the birefringence of the cortical layer of sea-urchin eggs induced by stretching. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 38, 427—436 (1951).

Eier von *Pseudocentrotus*, *Heliocidaris* und *Mespilia* und von *Astriclypeus*, welche durch Aufsaugen in Glaskapillaren deformiert wurden, zeigen wechselnde Doppelbrechung in den Rindenlagen. [Entsprechende Versuche zu meinem „capillary birefringent effect“, über die ich nach Versuchen an Cytoplasma zahlreicher tierischer wie pflanzlicher Objekte seit über 16 Jahren mehrfach, zuletzt auf dem VII. Internationalen Botanikerkongreß in Stockholm (1950), berichtet habe, die auch von anderer Seite behandelt worden sind, so von W. J. Schmidt (Protoplasma 34, 261 f., 1940; 37, 111, 1942; Erg. Physiol. 44, 27, 74, 1941), und jüngst von W. Seifriz (in Deformation and Flow in Biological Systems, 1, 73, Amsterdam 1952), sind den Verff. unbekannt geblieben.] Bei den meisten Eiern nahm die tangential negative Doppelbrechung mit Zug auf die Plasmarrinde zu, mit Druck ab. Das inverse Verhalten der Eier von *Mespilia globulus* wollen die Verff. mit dem (kaum wirklich überzeugenden — Ref.) Hinweis erklären, daß die Anisotropie eine Funktion nicht nur der mit verstärkter Orientierung der Leptonen sich auswirkenden Spannung, sondern auch der Menge doppelbrechenden Materials sein muß und eben der letzte Faktor hier besonders starken Einfluß hat.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

Inoué, Sh., and K. Dan: Birefringence of the dividing egg. J. Morph. 89, 423—456 (1951).

Im ersten Teil der Untersuchungen wird an Eiern der Meduse *Spirocodon* und der Seeigel *Clypeaster*, *Mespilia* und *Strongylocentrotus* unter Veranschaulichung durch schön gelungene Aufnahmen der seit W. J. Schmidt (1936), Runnström, Monné, dem Ref. und Hughes und Swann oft gezeigte Befund positiver Doppelbrechung der Spindelfasern in der Mitose wiederholt. Im Laufe dieser Untersuchungen aber ist, was vom Ref. als Fehlmessung aufgefaßt wurde bei seinen Analysen des Spindelplasmas als Wienersche Mischkörper (Cytologia 16, 194, 1951; Publ. Staz. Zool. Napoli 23, Suppl. 147, 1951) störend sich auswirkt und nur durch Beschränken auf völlig übereinstimmende späte Mitosestadien eliminiert werden konnte, von den Verff. gefunden worden, wie die positive Doppelbrechung in gewissen mitotischen Frühstadien in negative umschlagen kann. Das Gel des Spindelplasmas, soweit es polar gerichtet ist, nimmt zum Unterschied von dem an positiver Anisotropie noch leicht zunehmenden äquatorialen Anteil an Doppelbrechung bis zur Isotropie ab oder wird negativ. In stark hypertonischen Medien wird dieser Umschlag noch gefördert. Gedeutet wird der Befund so, daß Spannung die positive, Druck die negative Anisotropie hervorruft, und in gewisser Hinsicht gestützt wird diese Deutung durch Experimente mit Gummi, Zelluloid, 4% Gelatinegel und dem Gel befruchteter Annelideneier. Die daran sich anschließenden Folgerungen der Verff. für die Erweiterung polarisationsoptischer Technik in quantitativer Hinsicht finden des Ref. uneingeschränkte Zustimmung, wie schon vor Kenntnis dieser Arbeit in einer bis soweit unveröffentlichten Panel Discussion on the 2nd internat. Gerontological Congress St. Louis (Sept. 1951) und in einem ausführlichen Diskussionsbeitrag an der Eli Lilly connective tissue conference in Indianapolis (Sept. 1951) dargelegt werden konnte.

H. H. Pfeiffer (Bremen).

Cramer, F., 1952: Einschlußverbindungen. Angew. Chem. 64, 437—447.

Neben den organischen Molekülverbindungen, bei denen sich Addukte durch Resonanzkräfte (H-Brücken, π -Komplexe) oder elektrostatische Kräfte bilden, wurde in den letzten Jahren eine neue Verbindungsklasse erkannt (Schlenk), und zwar die der Einschlußverbindungen. Das Kenn-

zeichnende ist die Fähigkeit großer Hohlräume aufweisender Stoffe, Moleküle geeigneter Größe in diesen Räumen einzuschließen und dort festzuhalten, wobei das Elektronensystem der Gastmoleküle meist gelockert wird. Ähnlich benehmen sich die makromolekularen Netzstrukturen, die Sorbate bilden.

Einige dieser Einschlußverbindungen und Sorbate — wenn man von katalytischen Effekten und den Ausblicken auf das Antigen-Antikörper-Problem absieht — haben biochemisches Interesse.

Cyclodextrine legen sich offenbar geldrollenartig aneinander und bilden einen röhrenförmigen Hohlraum, der organische Stoffe aufnehmen kann. Diese Art der „Additionsverbindungen“ sind unlöslich. Auch bei der Cellulose wird vermutet, daß Wasser, Alkali, u. U. auch Kohlenwasserstoffe und Farbstoffe zwischen den Fadenmolekülen inkludiert sein können.

Besonders interessant ist die Aufklärung der Jodreaktion der Stärke. α -Dextrin nimmt im Ringhohlraum Jod auf (mit brauner Farbe!). Beim Auskristallisieren können sich in den entstehenden Röhren Jodkettenmoleküle ($J_{14}?$) ausbilden (Periode von 3,06 Å), die durch Resonanzeffekte ein stark aufgelockertes Elektronensystem besitzen, welches zur blauen Farbe führt. In der makromolekularen Stärke sind bereits in „Lösung“ Kanäle für die Einlagerung von Jodketten vorhanden (Schraubenstruktur der V-Amylose?), daher zeigt sie bereits in Lösung blaue Farbe.

Eine Reihe von Einschlußverbindungen ist beschrieben.

E. Treiber (Graz).

Berichtigung

In der Abhandlung „Untersuchungen zur Frage der Strahlenresistenz des Chlorophylls in den Chloroplasten“ von Herta Munding (Protoplasma 41, 212, 1952) sind die Abb. 3 u. 4 auf S. 217 falsch gestellt worden. Die richtige Wiedergabe ist:

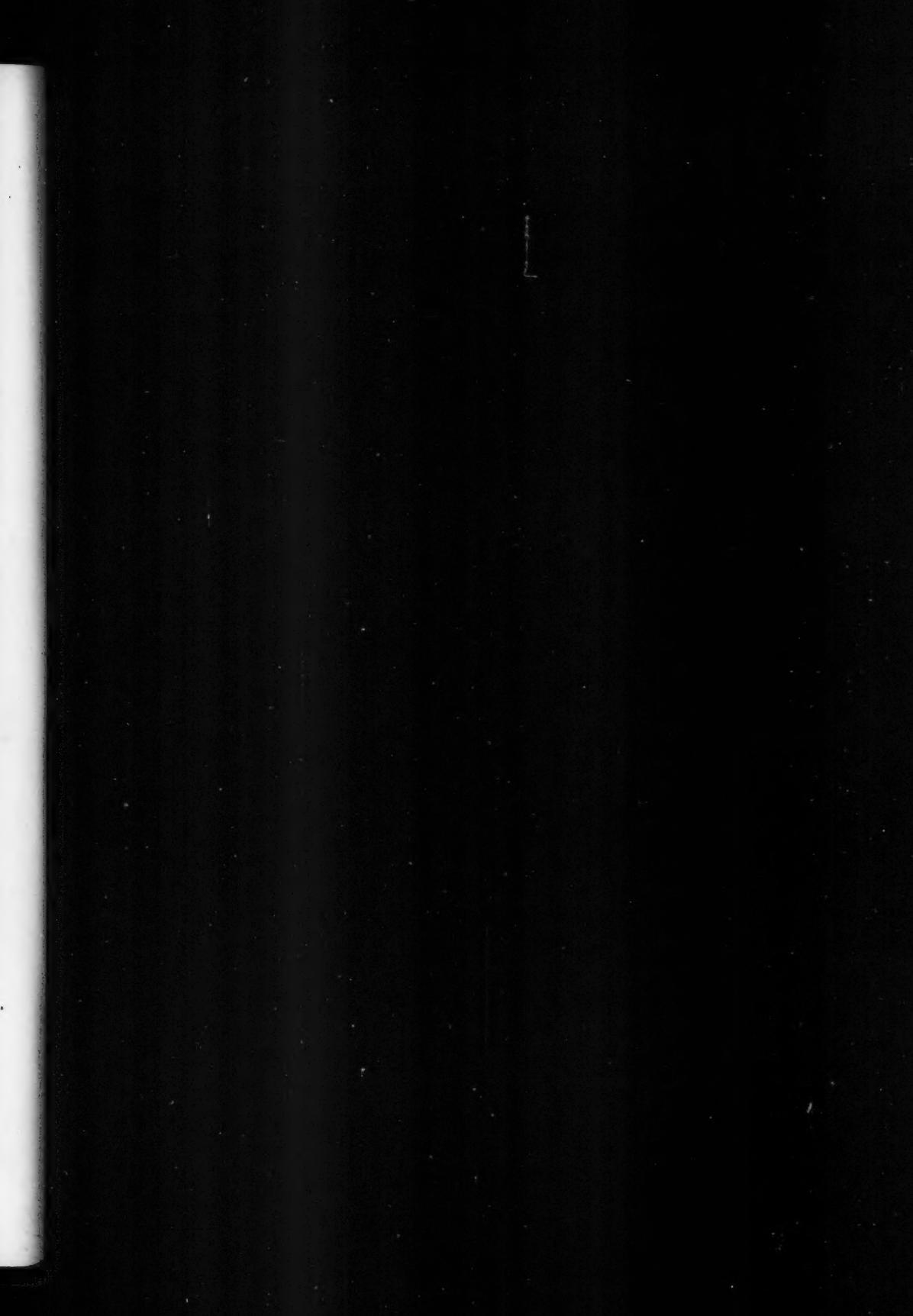
Abb. 3 u. 4. Sechsständige Bestrahlung von *Vallisneria gigantea* mit Sonnenlicht am 10. Mai. Aufnahme am 21. Mai. Plasmolyse mit 0,7 mol KNO₃. Vergrößerung 450 X.



Abb. 5. Kontrolle, oberste Zellreihe. Färbung der Chloroplasten: intensiv grün.

Unverändert gegenüber dem Beginn des Versuches.

Abb. 4. Bestrahl., oberste Zellreihe. Färbung der Chloroplasten: grüngelb. Induktion des Chlorophyll- und Chloroplastenabbaues.



2
1

Bei der Schriftleitung sind folgende weitere Arbeiten eingelangt:

- Zlegenspeck, Hermann:** Die Wegsamkeit der Pigmentschicht der Getreidekörner (Endodermischicht) für Fluorochrome 8. 2. 1952
- Biebl, Richard:** Resistenz der Meeresalgen gegen sichtbares Licht und gegen kurzwellige UV-Strahlen 8. 4. 1952
- Weber, Friedl und Griseldis Kenda:** Die Viruskörper von *Opuntia subulata* 21. 4. 1952
- Reuter, Lotte:** A Contribution to the Cell-physiologic Analysis of Growth and Morphogenesis in Fern Prothallia 30. 4. 1952
- Schwantes, H. O.:** Färbungsanalytische Untersuchungen zur Lage des isoelektrischen Punktes der Zellbestandteile in wachsenden Zellen und Geweben. I. Untersuchungen an Pilzmyzelien 9. 5. 1952
- Phillipsborn, H. v.:** Über Calciumoxalat in Pflanzenzellen 10. 6. 1952
- Küster, Ernst:** Zytomorphologische Beobachtungen an *Chaetomorpha* 21. 6. 1952
- Mayersbach, Heinz:** Über die Färbbarkeit des Schilddrüsenkolloids 4. 7. 1952
- Windisch, F., D. Stierand und H. Haehn:** Über den Nachweis der Zellphosphate und die Unspezifität der bisher gebräuchlichen histochemischen Methoden zur Lokalisierung der Ribonukleotide 19. 7. 1952
- Werner, Cl. F.:** Durch Schall verursachte Zellreaktionen und Gewebsveränderungen in der Schnecke des Meerschweinchens 1. 8. 1952
- Kuhl, Willi:** Untersuchungen über die Cytodynamik der Plasmogamie und temporären „Plasmabrücken“ bei *Actinosphaerium eichhorni* EHRBG. unter Änderung des Zeitfaktors mittels des Zeitrafferfilms 8. 8. 1952
- Düvel, Dietrich:** Polarisationsoptische Chloroplastenuntersuchungen an *Impatiens parviflora* 18. 8. 1952
- Treibler, E., W. Lang und M. Florantschitsch:** Die Ultraviolettabsoption einiger Cambialsäfte 19. 8. 1952
- Muschik, Margarete:** Untersuchungen zum Problem der Aleuronkornbildung 20. 8. 1952
- Kenda, Griseldis und Friedl Weber:** Rasche Vakuolen-Kontraktion in *Ceratina*-Blütenzellen 2. 9. 1952
- Hug, O., W. Lippert und H. Fischer:** Das elektronenoptische Bild der Salmonidenspermatozoen 12. 9. 1952
- Diannellidis, Themistokles und Karl Umrath:** Aktionsströme der Blasen von *Utricularia vulgaris* 18. 9. 1952
- Brooks, S. C.:** The Penetration of Radioactive Sodium into *Valonia* and *Halicystis* 26. 9. 1952
- Umratsh, Karl:** Über Aktionsstrom und Stillstand der Protoplasmaströmung bei *Nitella opaca* 4. 10. 1952
- Sponsler, O. L. and Jean D. Bath:** A View of Submicroscopic Components of Protoplasm as Revealed by the Electron Microscope 6. 10. 1952

SPRINGER-VERLAG IN WIEN I

Soeben erschien:

Paläobiologie und Stammesgeschichte

Ein Leitfaden von Dr. Kurt Ehrenberg, o. Professor der Paläontologie und Paläobiologie an der Universität Wien i. R. Mit 29 Textabbildungen. VII, 107 Seiten. 1952. Steif geheftet S 48.—, DM 9.60, \$ 2.80, sfr. 10.—

Seit dem Erscheinen der „Grundzüge der Paläobiologie der Wirbeltiere“ von C. Abel und der „Vergleichenden biologischen Formenkunde der fossilen niederen Tiere“ von H. Daqué sind 40 bzw. 30 Jahre vergangen, eine Zeitspanne, in der zahlreiche neue Erkenntnisse auf diesen Gebieten gewonnen wurden. Die angekündigte Schrift berücksichtigt nicht nur diese letzten Forschungsergebnisse, sondern gibt auch erstmals eine Gesamtdarstellung der Paläobiologie und Stammesgeschichte, wobei sie sich bewußt auf das Grundzäliche beschränkt. Sie wendet sich an den Studierenden der Paläontologie, aber auch an alle, die in irgendeiner Weise an Fossilien interessiert sind, wie Montan-, Erdölgeologen usw. Da alle Fachausdrücke erläutert sind, ist das Werk auch für jeden Fernerstehenden geeignet, der sich über das weit über den Fachbereich hinaus bedeutsame Wissenschaftsgebiet orientieren möchte.

Archiv für die gesamte Virusforschung

Herausgegeben von R. Doerr †, Basel, und C. Hallauer, Bern

Zuletzt erschien:

Band IV, Heft 5 (Schlußheft). (Abgeschlossen im Mai 1952.) Mit 27 Textabbildungen. 130 Seiten. 1952. S 118.—, DM 23.60, \$ 5.65, sfr. 24.50

Inhalt: Prof. Dr. R. Doerr †. — Ayeock, W. Lloyd †. The Epidemiology of Paralysis in Poliomyelitis. — Verlinde, J. D. A Comparative Study on Muscular Involvement in Experimental Poliomyelitis Induced by Various Strains of Virus, and the Effect of Hyaluronidase on the Intramuscular Inoculation. — Verlinde, J. D. An Experimental Study on the Effect of Immunization with T. A. B. and Pertussis Vaccine and Alum-precipitated Diphtheria Toxoid on the Centripetal and Centrifugal Neural Spread of Poliomyelitis Virus. — Jungblut, Claus W. Experimental Studies with F Virus. — Meyer, K. F. and B. Eddie. Human Pneumonitis Viruses and their Classification. — Gard, S., P. von Magnus, A. Svedmyr and A. Birch-Andersen. Studies on the Sedimentation of Influenza Virus. — Henle, Werner, Miles E. Drake, Gertrude Henle and Joseph Stokes, Jr. Evidence for the Propagation of the Virus of Serum Hepatitis in the Chick Embryo. — Magraselli, F. Dati sperimentali in favore dell'eziolegia virale della malattia leucemica umana. — Knight, C. A. The Agglutination of Chicken Erythrocytes with Special Reference to Avian Histone. — Marcuse, Kurt, und Grete-Maria Beeke. Über das Verhalten menschlicher Erythrozyten beim Hirschtest auf Influenzavirus.

Österreichische Botanische Zeitschrift

Herausgegeben von Lothar Geitler, Wien

Zuletzt erschien:

Band IC, Heft 4. (Abgeschlossen im Juni 1952.) Mit 40 Textabbildungen. 412 Seiten. 1952. S 98.—, DM 19.60, \$ 4.70, sfr. 20.40

Inhalt: J. Schiller, Über die Vermehrung des Paramyons und über Alterserscheinungen bei Eugleninen. — Hermine Baum, Normale und inverse Unifazialität an den Laubblättern von *Codium variegatum*. — Friedl Weber und Irmtraud Thaler, Stomata-Zahl der Hochblätter von „Poinsettia“. — Walter Lohffelner, Transversale Abflachungen im Spitzenbereich der Karpelle. — Lothar Geitler, Untersuchungen über Kopulation und Auxosporenbildung pennater Diatomeen. III. — Barbara Haemus, Verbreitung und Ausbildung der Einkeimblattrigkeit bei den Umbelliferen. — Lothar Geitler, Oogamie, Mitose, Meiose und metagame Teilung bei der zentrischen Diatomee *Cyclotella*.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung

